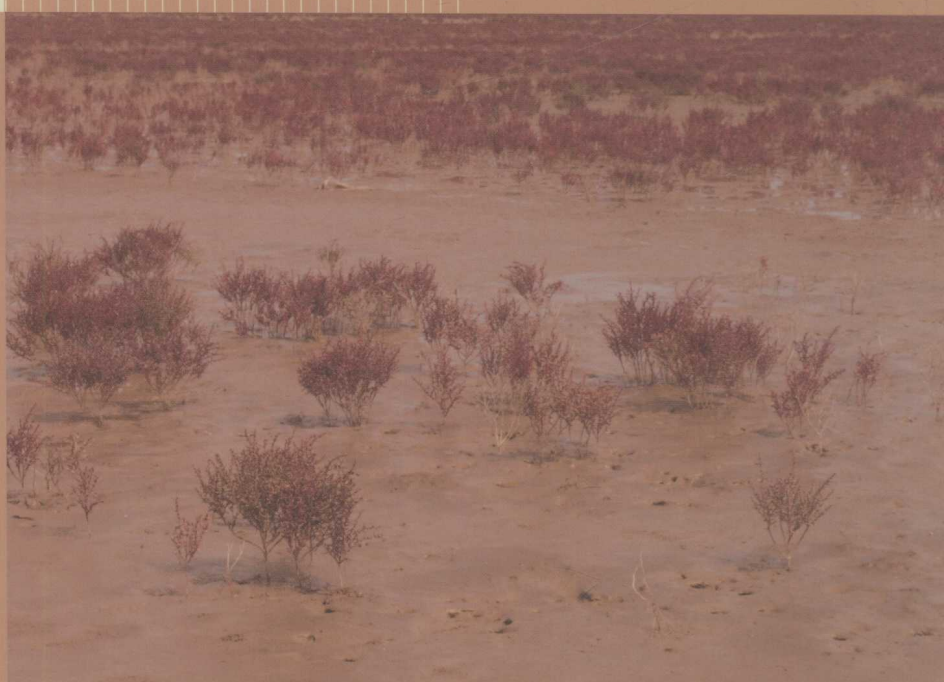
逆境植物生物学

Plant Biology Under Stress

主编 王宝山



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

逆境植物生物学

Nijing Zhiwu Shengwuxue

主　编　王宝山

副主编　范　海　宋　杰　隋　娜

高等教育出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS　BEIJING

图书在版编目(CIP)数据

逆境植物生物学/王宝山主编. —北京:高等教育出版社,2010.8
ISBN 978-7-04-029593-1

Ⅰ.①逆… Ⅱ.①王… Ⅲ.①植物学-研究生-教材
Ⅳ.①Q94

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 151839 号

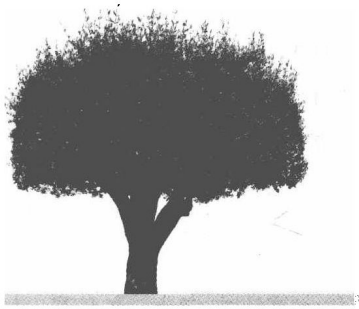
策划编辑 王 莉　　**责任编辑** 刘思涵　　**封面设计** 张 楠
责任绘图 尹 莉　　**责任印制** 韩 刚

出版发行	高等教育出版社	**购书热线**	010-58581118
社　　址	北京市西城区德外大街 4 号	**咨询电话**	400-810-0598
邮政编码	100120	**网　　址**	http://www.hep.edu.cn http://www.hep.com.cn
经　　销	蓝色畅想图书发行有限公司	**网上订购**	http://www.landraco.com http://www.landraco.com.cn
印　　刷	高等教育出版社印刷厂	**畅想教育**	http://www.widedu.com
开　　本	787×1092　1/16		
印　　张	14.25	**版　　次**	2010 年 8 月第 1 版
字　　数	340 000	**印　　次**	2010 年 12 月第 2 次印刷
插　　页	1	**定　　价**	32.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有　侵权必究

物料号　29593-00



前　言

随着世界人口的急剧增加及人类对提高生活水平要求的无限膨胀，人类生存的环境在不断地恶化，而且恶化的速度越来越快。这种恶化的环境不仅对人类造成损害，也对植物造成严重伤害。这些不利环境所产生的问题主要包括：大量土壤的盐碱化、荒漠化导致可耕地面积减少；淡水资源（包括地上和地下）日益匮乏，农业、城市及乡村用水困难越来越突出；气候变化造成的降雨不均衡导致地区性干旱及洪涝；温室效应等造成的海平面上升、高温胁迫及地域性突然产生的低温伤害；大量使用化肥、农药产生的土壤污染及工业废气、废水和废渣等造成大气污染、水环境污染及土壤污染等等。这些不利的环境都对植物的生长发育，乃至生存产生深刻的影响。

在19世纪至20世纪人口增加了近6倍。为了满足人类对粮食的需要，主要通过品种改良、使用化肥及扩大灌溉来提高产量。19世纪初世界总人口约10亿，19世纪末增加到15亿，20世纪末增加到53亿，21世纪20年代将达到60亿。在此期间灌溉地面积也急剧增加，19世纪初世界总灌溉地约为800万公顷；19世纪末增加到约4 000万公顷；20世纪末达到42 000万公顷。灌溉虽然提高了粮食产量，但消耗了大量淡水资源。估计世界淡水消耗的65%～70%用于农业生产，而其中绝大部分为无效用水。另一方面，大量灌溉造成大面积土地的盐渍化，使良田变成盐碱地。我国20世纪50—60年代引黄河水灌溉农田等也造成了黄河流域大量土地次生盐碱化。同样印度、巴基斯坦、澳大利亚等国家存在这种因不合理灌溉产生盐渍化问题。关键问题是一旦土壤发生盐碱化就几乎不可能完全恢复原来的状况，而且去盐碱化是一项耗资巨大而又十分复杂的系统工程。而令人担忧地是世界及我国的盐碱地面积还在逐年增加，到2000年我国盐碱地达到2 000多万公顷，其中耕地占670万公顷。

干旱和洪涝也是世界性问题。约有一半左右粮食减产是因干旱和洪涝造成。在我国干旱主要发生在长江以北地区，尤其是西北地区几乎是十年九旱。而洪涝主要发生在长江以南地区，几乎也是年年洪涝。无论是水分过少（干旱）还是水分过多（涝）都对植物生长发育不利，严重时植物根本不能生存。我国西北干旱及半干旱地区植物稀少、自然环境脆弱、粮食产量很低，甚至绝产，这也是西部地区落后的地理生态因素。其次，在20世纪50—60年代把大量森林和草原变成农田也加速了该地区生态气候因子的恶化，造成今天沙漠化速度加快及沙尘暴频度加大、强度更强和范围更大。而今天的退耕还林，退耕还草的措施就是要恢复该地区生态，但完全恢复很难，

而且代价巨大。

高温和低温也是主要的逆境因素之一。现在夏季许多地区发生40 ℃以上高温天气,中午地面温度达50 ℃,沙漠地区更高。而在北方地区春末夏初之际,高温加上大风(干热风)也经常发生。这些高温天气对植物,特别是作物生长发育是十分不利的。另一方面,虽然现在低温天气在世界范围越来越少,但突如其来的寒流对植物的伤害更为严重,这在我国南方早春的水稻生产、茶叶生产经常发生。2008年我国南方大面积低温冰雪天气对农业和林业都造成了严重危害。北方的果树生产及大棚栽培中经常发生低温伤害。

当然,除了以上提到的盐碱、干旱、洪涝、低温和高温等逆境外,自然界还有病虫、重金属、大气污染和营养元素亏缺等都对植物产生危害。但本书将重点对盐碱、水分逆境和温度逆境下植物种类资源、形态解剖学特性及这些逆境对细胞超微结构、生理生态的影响及分子机制进行介绍。本书分为6章:第一章:逆境植物生物学概论;第二章:盐渍逆境植物生物学;第三章:干旱逆境植物生物学;第四章:洪涝逆境植物生物学;第五章:低温逆境植物生物学;第六章:高温逆境植物生物学。第一章和第二章由王宝山教授编写,第三章和第四章由范海教授编写,第五章由宋杰副教授编写,第六章由隋娜博士编写。第一章主要介绍逆境植物生物学的一些基本概念、不同逆境下植物的共同响应及其机制,为学习和了解以后某种具体逆境下的植物生物学奠定基础。第二至第六章都将按照以下层次对某种逆境植物生物学进行讨论,简要介绍逆境条件下,自然环境中植物种类及适应该逆境的形态结构;该逆境对细胞超微结构的影响;植物抵抗该逆境的生理生态学机制;植物抵抗该逆境的分子机制及基因工程等方面内容。

据我们所知,目前世界上还没有逆境植物生物学专著,而某种逆境下植物学某个方面的专著很多,如《中国盐生植物》、《作物抗性生理》和《逆境植物细胞生物学》等。但是,随着植物生活环境的不断恶化及我国对农业、林业和环境保护的重视,我国从事植物(作物、林木、花卉和蔬菜)逆境植物研究及教学的队伍不断扩大,尤其是近年来随着生命科学日益成为带头学科,学习植物科学的大学生成倍增长,从事逆境植物研究的科研人员和研究生也快速增加,已形成了一支庞大的队伍。但是,相应的基本概念、基础知识及最新研究成果都跟不上形势发展。本书是在我们二十多年研究生教学和科研工作并参考国内外同行研究结果的基础上修改补充编写的,因编者水平所限,不可能把不同逆境下的各方面知识都详尽阐述,而是就逆境下植物生物学的最基本问题尽可能阐述清楚,在此基础重点深入讨论植物适应盐渍、水分和温度逆境的生理生化及分子机制。希望本书对于学习、研究逆境条件下植物生命现象的人员有参考价值。

本书使用了大量同行的数据及结果,并得到“国家海洋‘863’重点项目”(2007AA091701)、“山东省研究生教育创新计划项目”(SDYY07067)和“山东师范大学出版基金”资助。本书得到高等教育出版社编辑在文字、图表及其格式的修改审定方面的大力帮助。在此一并表示衷心感谢。

由于作者水平有限书中定有疏漏、错误及不妥之处,敬请读者批评指正。

王宝山

2009年12月于济南

郑 重 声 明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其行为人将承担相应的民事责任和行政责任，构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话：(010)58581897/58581896/58581879

传　　真：(010)82086060

E - mail：dd@ hep. com. cn

通信地址：北京市西城区德外大街4号
高等教育出版社打击盗版办公室

邮　　编：100120

购书请拨打电话：(010)58581118

目　录

1　逆境植物生物学概论 …… 1

1.1　逆境、逆境植物及植物适应性 …… 1

1.1.1　逆境 …… 1

1.1.2　逆境植物 …… 1

1.1.3　植物的适应性 …… 2

1.2　逆境条件下植物的生长及形态变化 …… 3

1.2.1　生长的概念 …… 3

1.2.2　生长的测量 …… 3

1.2.3　形态变化 …… 4

1.3　逆境条件下植物的生理变化与抗逆性 …… 4

1.3.1　生物膜与植物抗逆性 …… 4

1.3.2　活性氧与植物抗逆性 …… 5

1.3.3　渗透调节与植物抗逆性 …… 10

1.3.4　激素与植物抗逆性 …… 13

1.3.5　逆境蛋白与植物抗逆性 …… 14

1.3.6　植物对逆境的交叉适应 …… 15

主要参考文献 …… 16

思考题 …… 17

2　盐渍逆境植物生物学 …… 18

2.1　盐渍土壤的形成 …… 19

2.1.1　盐的来源 …… 19

2.1.2　盐土、碱土、盐碱土和次生盐碱土 …… 19

2.1.3　盐碱土的分布 …… 21

2.2 盐生植物与非盐生植物 …… 21
2.3 盐生植物资源 …… 22
2.3.1 盐生植物起源 …… 22
2.3.2 盐生植物类型、种类及分布 …… 23
2.3.3 盐生植物在植物抗盐机理研究中的作用 …… 31
2.3.4 盐生植物的开发利用及保护 …… 32
2.4 盐生植物耐盐的形态学基础 …… 33
2.4.1 拒盐的形态学基础 …… 34
2.4.2 泌盐的形态学基础 …… 36
2.4.3 稀盐的形态学基础 …… 44
2.5 盐胁迫对植物的伤害 …… 47
2.5.1 盐害 …… 47
2.5.2 盐害和离子害 …… 47
2.5.3 原初盐害 …… 48
2.5.4 次生盐害 …… 55
2.5.5 盐对生长发育的影响 …… 57
2.6 植物抗盐的生理机制 …… 64
2.6.1 抗盐性 …… 64
2.6.2 植物的耐盐阈值 …… 65
2.6.3 影响植物抗盐性的因子 …… 67
2.6.4 对盐胁迫引发的渗透胁迫的抗性及机理 …… 68
2.6.5 Na^+从外界进入细胞的可能途径 …… 80
2.6.6 盐离子的区域化作用机理 …… 82
2.7 植物对盐分胁迫信号的接受和传递 …… 90
2.7.1 渗透胁迫信号的接受和传递 …… 90
2.7.2 离子胁迫信号的接受和传递 …… 91
2.8 植物抗盐基因工程 …… 92
2.8.1 植物的抗盐性是由多基因控制的 …… 92
2.8.2 渗透调节溶质关键酶基因工程与抗盐性 …… 93
2.8.3 离子区域化转运蛋白基因工程与抗盐性 …… 94
2.8.4 植物抗氧化酶基因工程与抗盐性 …… 97
2.8.5 植物抗盐基因工程值得思考的问题 …… 97
主要参考文献 …… 98
思考题 …… 102

3 干旱逆境植物生物学 …… 103

3.1 水的结构和性质 …… 103
3.1.1 水的分子结构特性 …… 103
3.1.2 水的沸点 …… 104

3.1.3 水的比热 …… 104
3.1.4 水的汽化热 …… 105
3.1.5 水产生的内聚力、黏附力和表面张力 …… 105
3.1.6 水的不可压缩性 …… 105
3.1.7 水的透光性 …… 106
3.1.8 水的溶解性 …… 106
3.2 水在植物生命活动中的作用 …… 106
3.2.1 细胞的主要组成成分 …… 106
3.2.2 代谢的重要原料 …… 106
3.2.3 各种生化反应和物质吸收、运输的介质 …… 106
3.2.4 保持细胞和个体固有的姿态 …… 106
3.2.5 调节植物体的温度 …… 106
3.3 植物组织中水分的存在形式、状况及其测定 …… 107
3.3.1 水分存在形式 …… 107
3.3.2 含水量 …… 107
3.3.3 水势 …… 108
3.4 干旱生境中植物形态结构的变化 …… 112
3.4.1 干旱及干旱类型 …… 112
3.4.2 干旱生境中植物形态结构变化 …… 113
3.4.3 干旱对细胞结构的影响 …… 115
3.5 干旱对植物生理过程的影响 …… 119
3.5.1 含水量 …… 119
3.5.2 生长 …… 120
3.5.3 矿质吸收 …… 121
3.5.4 光合作用 …… 122
3.5.5 激素 …… 125
3.5.6 干旱与蛋白质 …… 130
3.5.7 植物发育 …… 136
3.6 植物抗旱的机制 …… 138
3.6.1 植物抗旱的类型 …… 138
3.6.2 植物耐旱的生理机制 …… 141
3.7 植物抗旱的基因工程 …… 148
3.7.1 基于细胞信号转导和基因调控的抗旱基因工程 …… 149
3.7.2 渗透保护物质积累的基因工程 …… 149
3.7.3 增强植物对活性氧自由基的清除能力的基因工程 …… 150
3.7.4 基于改变细胞膜脂组分的基因工程 …… 150
3.7.5 抗旱基因工程存在问题 …… 152
主要参考文献 …… 152
思考题 …… 156

4 洪涝逆境植物生物学 …… 157
4.1 涝害的定义和类型 …… 157
4.2 淹水对土壤的影响 …… 158
4.2.1 对土壤水—气平衡和气体状况的影响 …… 158
4.2.2 对土壤还原势的影响 …… 158
4.2.3 对土壤肥料的影响 …… 158
4.2.4 对土壤 pH 的影响 …… 159
4.3 洪涝对植物形态结构的影响 …… 159
4.3.1 根系 …… 160
4.3.2 叶片 …… 160
4.3.3 茎 …… 161
4.4 洪涝对植物生理生化过程的危害 …… 161
4.4.1 水分代谢 …… 161
4.4.2 呼吸作用 …… 162
4.4.3 光合作用 …… 162
4.4.4 矿质营养 …… 162
4.4.5 植物激素 …… 163
4.5 植物抗涝机制 …… 164
4.5.1 植物避涝性 …… 164
4.5.2 植物耐涝性 …… 167
4.5.3 植物对涝害的分子响应 …… 170
4.6 提高植物抗涝性的途径和措施 …… 174
4.6.1 提高植物抗涝性的途径 …… 174
4.6.2 防涝和治涝的措施 …… 175
主要参考文献 …… 175
思考题 …… 178
5 低温逆境植物生物学 …… 179
5.1 冷害与冷害机理 …… 179
5.1.1 冷害对细胞结构的影响 …… 179
5.1.2 冷害对植物生理生化的影响 …… 180
5.1.3 冷害机理 …… 184
5.2 冻害与冻害机理 …… 186
5.2.1 冻害 …… 186
5.2.2 冻害机理 …… 186
5.3 低温锻炼及适应性变化 …… 187
5.3.1 生理生化变化 …… 187
5.3.2 细胞结构的变化 …… 191

5.4 植物抗冻信号转导及抗冻基因工程 …… 191
5.4.1 抗冻信号转导 …… 191
5.4.2 抗冻基因工程 …… 192
5.5 提高植物抗低温能力的途径 …… 193
5.5.1 抗冻锻炼 …… 193
5.5.2 化学调控 …… 194
5.5.3 农业措施 …… 194
5.5.4 转基因技术 …… 194
主要参考文献 …… 194
思考题 …… 197

6 高温逆境植物生物学 …… 198

6.1 植物对温度反应类型 …… 198
6.2 热胁迫对植物形态结构的影响 …… 198
6.2.1 外部形态变化 …… 198
6.2.2 内部结构的变化 …… 198
6.2.3 细胞超微结构的变化 …… 199
6.3 热胁迫对植物生理生化的影响 …… 200
6.3.1 光合作用 …… 200
6.3.2 呼吸作用 …… 203
6.3.3 膜功能 …… 203
6.3.4 酶及蛋白质 …… 204
6.4 植物对高温的形态适应 …… 204
6.4.1 物候学 …… 204
6.4.2 形态学适应 …… 204
6.5 植物对热胁迫的生理生化适应 …… 205
6.5.1 提高膜的耐热性 …… 205
6.5.2 通过改变蒸腾作用提高耐热性 …… 205
6.5.3 通过提高酶的热稳定性提高耐热性 …… 206
6.5.4 通过诱导产生热激蛋白提高耐热性 …… 206
6.6 植物耐热的分子机理 …… 207
6.6.1 热激蛋白与耐热性 …… 207
6.6.2 热胁迫的信号转导 …… 207
6.7 提高植物抗热性的途径 …… 208
主要参考文献 …… 208
思考题 …… 212

名词索引(中英文对照) …… 213

1 逆境植物生物学概论

自然界中的植物并非总是生活在适宜其生长发育的环境中。由于不同的地理位置和气候条件，尤其近年来人类的活动造成了多种不良的环境，这些环境变化超出了植物正常生长、发育所能耐受的范围，导致植物受到伤害甚至死亡，因此，加强植物逆境生理及分子机理的研究，了解植物在不良环境条件下的生命活动规律，对于提高植物的抗逆性、增加农业产量及环境保护都具有十分重要的意义，同时也为植物抗逆基因工程提供理论依据和新思路。

植物对不同逆境既有共同的适应机制，又有其适应某种逆境的专一结构或机制。为避免重复及讨论方便起见，本章对逆境植物生物学的一些基本概念及植物适应不同逆境的共同适应机制进行介绍。

1.1 逆境、逆境植物及植物适应性

1.1.1 逆境

逆境（environmental stress）指对植物生长和发育不利的各种环境因素的总称，又简称**胁迫**（stress）。逆境的种类是多种多样的，可分为**生物逆境**（biotic stress）和理化因素逆境，又称**非生物逆境**（abiotic stress）（图 1-1），这些逆境因子，一方面可以单独对植物造成伤害，另一方面它们之间又可以相互交叉、相互影响对植物产生协同影响。

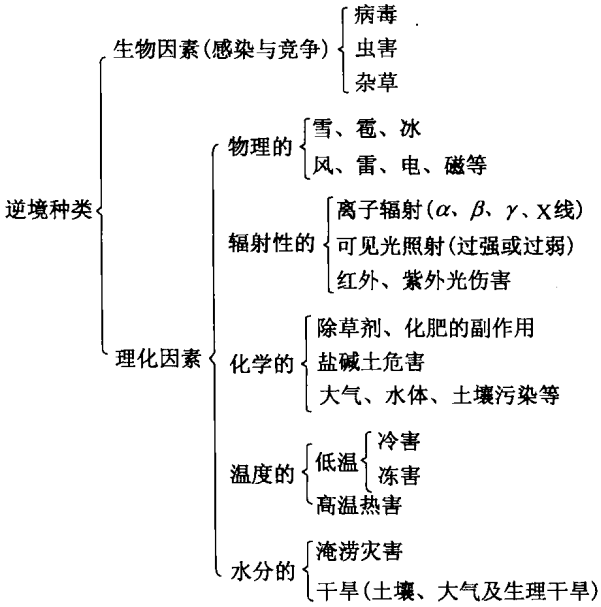


图 1-1 逆境的种类

（引自王宝山，2007）

1.1.2 逆境植物

逆境植物（stress plants；plants under stress）指生长在逆境条件下的植物。有两层含义：其一是自然逆境下的天然植物群落，这类植物因其长期生长发育在某种逆境环境中已在其形态解剖及生理生化方面产

生了适应性,能在某种逆境条件下完成生活史,如盐碱地上的盐生植物、干旱沙漠中的旱生植物等;其二是在非逆境条件下的植物因天然或人为因素遭受逆境影响,而且这种逆境往往对植物产生伤害,如植物突然遭受低温和高温胁迫等,通常我们所说的逆境植物一般是指第一种情况,但在科学研究过程中两种情况都有。

1.1.3 植物的适应性

研究逆境下的植物种群分布、形态特征、细胞结构、生理生化、分子生物学特征及机制称为**逆境植物生物学**(plant biology under stress)。植物自身对逆境的适应能力叫做植物的适应性(adaptability),植物对逆境的适应方式是多种多样的(图 1-2)(王宝山,2007)。**避逆性**(stress escape)是指植物整个生长发育过程不与逆境相遇,而是在逆境到来之前已完成其生活史,如沙漠中短命植物只在雨季生长发育完成生活史。**抗逆性**(stress resistance)是指植物对逆境的抵抗能力或耐受能力,简称为抗性,包括御逆性和耐逆性。**御逆性**(stress avoidance)是指植物具有一定的防御环境胁迫的能力,且在逆境条件下仍保持正常状态,如泌盐植物二色补血草,通过盐腺将大量盐分排出体外,一些植物叶表面覆盖茸毛、蜡质,强光下叶片卷缩等避免干旱的伤害。**耐逆性**(stress tolerance)是指植物通过生理生化变化来阻止、降低甚至修复由逆境造成的损伤,从而保证正常的生理活动,包括御胁变性和耐胁变性。**御胁变性**(strain avoidance)是指植物在逆境作用下能减低单位胁迫所引起的胁变,起着分散胁迫的作用,植物细胞膜稳定性强、蛋白质间的键合能力强及保护物质多等可以提高植物的抗性。**耐胁变性**(strain tolerance)又可分为胁变可逆性和胁变修复两种。**胁变可逆性**(strain reversibility)是指植物在逆境作用下产生一系列生理生化变化,当逆境解除后,各种生理生化功能迅速恢复正常。**胁变修复**(strain repair)是指植物在逆境作用下通过代谢过程修复被破坏的结构和功能。应该指出,植物对逆境的适应性的强弱取决于胁迫类型、胁迫强度、胁迫时间、胁迫方式和植物自身的遗传潜力。

图 1-2 植物的各种适应性

(引自王宝山,2007)

另外,这里有两个概念需要解释:**适应**(adaptation)和**驯化**(acclimation)。适应和驯化都是指植物获得对某一逆境的耐性。但是,适应是指植物在形态结构和功能方面获得了可遗传的改变,从而增加了对逆境的抗性,如冰叶日中花(*Mesembryanthemum crystallinum*)经过一定时间的干旱或盐碱处理后,由 C_3 途径变成 CAM 途径,并且在叶片和茎上产生盐囊泡等结构,而驯化是指植物个体在生理生化方面获得不可遗传的改变。这种改变是通过对个体逐步增加逆境强度获得的,一旦逆境解除,植物个体获得的抗性也消失,这种对逆境耐性的提高不能遗传给后代,如把烟草的愈伤组织逐步转接到 NaCl 浓度增加的培养基上,经过几十代继代培养后,可以在 1% 以上的 NaCl 培养基上生长,而由此愈伤组织获得植株的种子发育成的植株还是不抗盐。

植物对某一逆境的驯化过程叫做抗性锻炼(hardening),通过锻炼可以提高植物个体对某种

逆境的抵抗能力。植物的抗性锻炼在农业、园艺等领域有重要意义，但是，植物抗性的强弱主要是由其遗传所决定的。

1.2 逆境条件下植物的生长及形态变化

1.2.1 生长的概念

生长(growth)是指植物细胞、组织、器官或个体的体积或重量不可逆的增加。生长包括细胞个数的增加和细胞体积的增大，当然细胞的分裂和体积的增加是以物质和能量代谢为基础的，即以生理生化代谢为基础(Nilson 和 Orcutt，1996)。因此，生长指标既可以用细胞数目、细胞体积、器官体积、面积、长度、个体重量来表示，也可以用生理指标光合速率、光合生产率或经济产量等来表示。衡量抗逆性强弱最可靠的指标就是生长量或产量。因此，生长指标的测定在逆境植物生物学中就显得格外重要。

1.2.2 生长的测量

(1) 相对生长量

在逆境植物生物学研究过程中，比较不同种类植物绝对生长量往往会因为植物个体大小、生长发育阶段等不同而变得非常复杂。例如，比较同样 NaCl 溶液处理对小麦三叶期幼苗和两年龄杨树苗的绝对生长量就很难说明问题。在这种情况下，比较其相对生长量就能反映它们的抗性强弱。

相对生长速率(relative growth rate，RGR)指在单位时间内单位重量植物个体、器官或组织重量的增加值，可以用公式 1-1 表示。

$$RGR = \frac{dW}{dt}\frac{1}{W} \quad g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1} \tag{1-1}$$

其中 t 表示时间，而 W 表示重量。

这个公式假设个体越大相对生长速率就越大。然而，许多情况下并非如此。一般来说，个体越大，支持和机械组织越大，呼吸消耗也越大。因此，*RGR* 会随个体的增大而下降。如果生长速率处于指数生长期，*RGR* 则为常数。如果生长速率处于 S 生长(sigmoidal)或线性生长期，则 *RGR* 随时间而下降。所以，*RGR* 分析取样时间非常关键。

通常相对生长速率用下面公式表示：

$$RGR = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1} \quad g \cdot d^{-1} \tag{1-2}$$

其中，W_2 和 W_1 分别表示在时间为 t_2 和 t_1 时个体的重量。重量单位为 g，时间单位为 d。

当然生长与光合作用叶面积有关。通常，叶面积越大生长速率越快。因此，可以用**净同化比**(net assimilation ratio，NAR)表示相对生长量，即单位叶面积在单位时间内使植物个体重量的增加值。NAR 可以用公式 1-3 表示。

$$NAR = \frac{dw}{dt}\frac{1}{LA} \quad g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1} \tag{1-3}$$

其中 t 表示时间，而 W 表示重量，LA 是开始时（$t=0$）个体的总叶面积。

公式 1-2 可以用于溶液培养单细胞藻类及植物细胞悬浮培养时细胞数量或体积的测定，也可以用于某个器官如根、叶相对生长的测定。

（2）绝对生长量

在某一时间测定整株植物器官（如果实、籽粒等）的生物量，是农业生产中经常用到的指标，也是逆境植物生物学应用于生产实际中判定植物抗性强弱的最终指标，这一指标通常是指最终经济产量。

（3）根生长分析

根通常生长在土壤中，且处于黑暗之中。因此，根的生长分析是非常困难的。过去关于逆境条件下植物根生长研究资料很少，但近年来由于技术上有新的进展，这方面资料逐渐增多，如在琼脂上分析根系生长；利用溶液培养分析根系生长；利用根系分析软件分析根系生长；特别是根系生长可视剖面装置的应用对逆境条件下根系生长分布情况成为可能。

1.2.3 形态变化

一般就个体而言，在逆境条件下植物生长下降或停止，个体变得矮小，目的是减少能量的消耗以抵抗逆境。另外，其器官也有明显形态变化，如干旱会导致植株矮小、叶片变红、叶面积减小、某些植物叶片卷曲、气孔开度减小甚至关闭，严重时幼嫩叶片和嫩茎萎蔫；淹水使叶片黄化、干枯、根系褐变甚至腐烂；高温下叶片变褐、出现死斑、树皮开裂；病原菌浸染叶片出现病斑；低温使叶片变红等。

逆境往往使细胞超微结构也发生改变（简令成和王红，2009）。如逆境使细胞膜变性，细胞膜选择透性降低甚至丧失，细胞与环境之间的物质交换平衡破坏，大量离子（如 K^+）及代谢物质（糖和氨基酸等）渗漏到细胞外，而 Na^+ 等有害离子进入细胞；叶绿体、线粒体等细胞器膜结构遭到破坏等，细胞的区域化被打破，正常代谢受到干扰，甚至紊乱。

1.3 逆境条件下植物的生理变化与抗逆性

逆境条件下植物不仅在形态结构方面发生可见的变化，而在此之前细胞内许多生理生化过程早已发生相应的改变，从而使植物适应改变了的环境。

1.3.1 生物膜与植物抗逆性

生物膜的透性对逆境的反应是比较敏感的，当植物受到干旱、冰冻、低温、高温、盐渍、SO_2 污染、病害和 O_2 胁迫等逆境时，质膜透性都增大，各种细胞器的内膜系统出现膨胀、收缩或破损。这主要是由于膜脂过氧化，膜蛋白变性及膜脂流动性改变，造成膜相变和膜结构破坏所致。因此，生物膜结构和功能的稳定性与植物的抗逆性密切相关。

在正常条件下，生物膜呈液晶相，当温度下降到相变温度时膜脂发生相变，即由液晶相转变为凝胶相。膜脂相变会导致原生质停止流动，膜结合酶活性降低，膜透性增大，电解质及某些小分子有机物大量渗漏，细胞物质交换平衡破坏，代谢紊乱，有毒物质积累，细胞受损。实验证实，植物的抗冷性与膜脂的种类、脂肪酸碳链的长度和不饱和程度有关。膜脂中脂肪酸碳链越长，膜

脂相变温度越高,抗冷性越低;碳链长度相同时不饱和双键越多,膜脂相变温度越低,抗冷性越强。

膜脂中磷脂酰胆碱(phosphatidal choline,PC)等磷脂是生物膜主要脂类,而单半乳糖二酯酰甘油(monogalactosyldiacylglycerol,MGDG)和双半乳糖二酯酰甘油(digalactosyldiacylglycerol,DGDG)等糖脂是构成叶绿体类囊体膜的主要脂类,对维持植物的光合作用具有重要作用(杨福愉,2005)。因此糖脂的种类和含量与植物的抗逆性有关。植物抗冻性增强时,膜脂中的磷脂含量显著增高。MGDG 含量低的植物吸收盐分少,抗盐性提高。

膜脂中饱和脂肪酸相对含量与植物的抗旱、抗热性有关。抗性品种细胞的饱和脂肪酸较多,不抗旱品种的脂肪酸比例(或组成)正好相反。此外,膜脂饱和脂肪酸含量与叶片抗脱水能力和根系吸水力密切相关。

膜蛋白与植物抗逆性也有关系,如甘薯块根线粒体在 0 ℃下几天,线粒体膜蛋白对磷脂的结合能力明显降低,继而磷脂(PC 等)从膜上游离出来,随后膜解体,组织坏死,这就是以膜蛋白为核心的冷害膜伤害假说。

1.3.2 活性氧与植物抗逆性

(1) 活性氧的化学特性

O_2 是植物生命活动所必不可少的物质之一,没有 O_2,植物生命就不能存在。然而,O_2 在参与新陈代谢的过程中会被活化成为**活性氧**(reactive oxygen species,ROS)。活性氧是指性质极为活泼、氧化能力很强的含氧物的总称,如超氧物阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$),羟基自由基($OH^{\cdot}$),过氧化氢(H_2O_2),脂质过氧化物($ROO^{\cdot}$)和单线态氧($^1O_2$)。在通常情况下,植物体内产生的活性氧不足以使植物受到伤害,因为植物在长期进化过程中形成了一个完善的清除活性氧的防卫系统,使活性氧的产生与清除维持在一个动态平衡,不会在体内积累。然而,一旦植物遭受到逆境胁迫,植物体内的氧代谢就会失调,活性氧的产生加快,而清除系统的功能降低,致使活性氧在体内积累,植物的结构与功能就会受到损伤,甚至导致个体死亡,即植物受到了氧伤害。

基态氧是三线态氧($^3O_2$),其分子轨道最外层的两个电子没有配对且自旋方向相同,由于自旋限制使其在通常状况下表现出一定的惰性。在生物体内,只有少数物质具有与基态氧相同的电子构型而能与之发生氧化还原反应,而且也只有少数酶类能够催化 O_2/H_2O 之间的四电子氧化还原反应。因此,O_2 分子发生的反应倾向于单电子还原反应。同时,在各种理化因素的作用下,基态氧很容易吸收一定的能量而转变成高活性的单线态氧($^1O_2$)。$^1O_2$ 解除了自旋限制,很容易单电子还原,每接受一个电子就生成一个活性氧分子,最终接受四个电子而生成 H_2O(图 1-3)(王宝山,2007)。

$^1O_2$ 是 $^3O_2$ 的激发态,具有较高的能量,其最外层的两个电子自旋方向相反且配对,从而解除了自旋限制,反应性极强。它既可以和其他物质发生结合反应,也可以将能量转移给其他物质而发生猝灭反应。$O_2^{\cdot-}$ 是 $^3O_2$ 的单电子还原产物,带有一个负电荷。和其他活性氧相比,$O_2^{\cdot-}$ 不很活泼,但因其寿命较长,可以从其生成位置扩散到较远的距离,而且质子化后形成的 $HOO^{\cdot}$ 是疏水性的,较 $O_2^{\cdot-}$ 更容易穿过生物膜从产生部位转移到其他部位,并在膜的疏水区积聚,同时 $HOO^{\cdot}$ 氧化性远大于 $O_2^{\cdot-}$。因而,从这种意义上讲,$O_2^{\cdot-}$ 有更大的危害性。$O_2^{\cdot-}$ 既可以接受一个电子氧化其他物质而被还原,又可以提供一个电子还原其他物质而被氧化。如 SOD 催化的歧化反

应($2O_2^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$)；夺取半胱氨酸、还原型细胞色素 C、谷胱甘肽(GSH)、维生素 C、维生素 E、胡萝卜素等的电子的氧化作用；与 H_2O_2 发生的 Harber-Weiss 反应产生更多活性氧($H_2O_2 + O_2^- \longrightarrow OH^- + OH^{\cdot} + {}^1O_2$)等。

$OH^{\cdot}$ 是 ${}^3O_2$ 的三电子还原产物，是已知的氧化性最强的氧化剂，比 $KMnO_4$ 和 $K_2Cr_2O_7$ 的氧化性还强。它的反应性极强，但寿命极短，在水溶液中仅为 10^{-6} s。它几乎可以和所有的细胞成分发生反应，对机体的危害极大。但它的作用半径小，仅能和邻近分子发生反应。$OH^{\cdot}$ 能够发生抽氢、加成和电子转移等反应。

H_2O_2 是 ${}^3O_2$ 的两电子还原产物，具有较强的氧化性，但当较强的氧化剂存在时，也具有一定的还原性。H_2O_2 能够很容易地穿过生物膜而与细胞质中的成分发生反应。近年来，越来越多的实验证明 H_2O_2 是重要化学信号参与许多生长发育及代谢过程(Apel 和 Hirt,2004)。

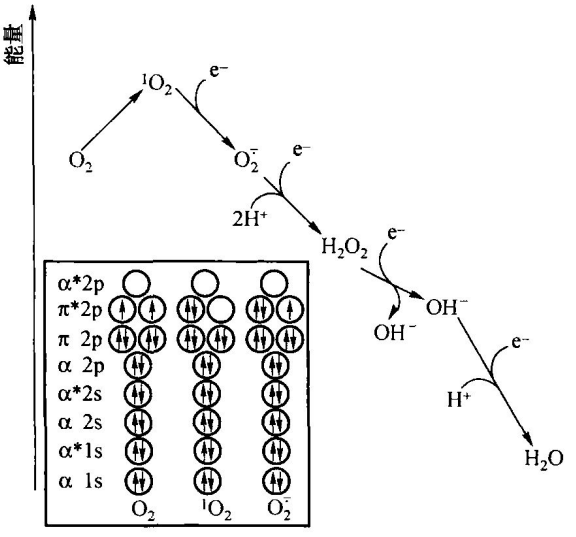


图 1-3 植物细胞活性氧的形成

电子自旋配对激活了基态氧，随后的电子吸收是放能过程。左下角示基态氧(O_2)、单线态氧($^1O_2$)和超氧阴离子自由基(O_2^-)的分子轨道和电子构象。羟自由基($OH^{\cdot}$)和水(H_2O)由进一步吸收电子和质子而形成。(引自王宝山，2007)

总之，尽管活性氧的反应活性差别较大，但都比基态氧(${}^3O_2$)和 H_2O 稳定性差。

(2) 植物体内活性氧的产生

和其他生物相比，在光照条件下，植物细胞由于光合作用放 O_2，细胞中 O_2 的浓度最高，因而更容易产生活性氧。活性氧产生的部位有叶绿体、线粒体、过氧化物体、细胞质、细胞核、质膜、质外体等。其中，叶绿体、线粒体、过氧化物体是植物细胞活性氧产生的三大主要细胞器。

叶绿体中活性氧的产生　光合电子传递链是光合细胞活性氧产生的最主要场所。在光合电子传递过程中，活性氧主要在三个部位产生(图 1-4)(Asada,1999)：①PS Ⅱ的放氧复合体在水光解循环中由于状态Ⅲ(S_3)的失活而释放活性氧；②活性氧在 PS Ⅱ的还原侧产生。电子由 PS Ⅱ还原侧的受体 Q_B 漏给 O_2 而以较低的速率产生 H_2O_2；③PS Ⅰ的还原侧是产生活性氧的主要部位。电子可直接在还原侧传递给 O_2 形成 O_2^-，也可以经过还原型铁氧还蛋白(Fd_{red})传递给 O_2

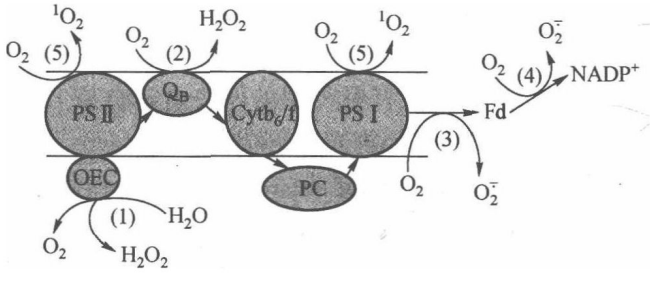


图 1-4 叶绿体光合电子传递链中活性氧的产生位点

光系统Ⅱ放氧复合体处产生 H_2O_2(1)；光系统Ⅰ受体侧(3)和还原型铁氧还蛋白(Fd)(4)处产生 O_2^-；光系统Ⅱ受体侧产生 H_2O_2(2)；O_2 的物理性激活产生 $^1O_2$(5)。Q_B. 质体醌；PC. 质体蓝素。(引自 Asada,1999)

形成 O_2^-。因而,单电子还原$^3O_2$产生 O_2^- 的 Mehler 反应是光合链上 ROS 产生的主要机制。在强光和其他逆境条件下导致光能过剩和 $NADP^+$ 与 ADP(相对)不足时,Mehler 反应增强。产生的 O_2^- 可自发地或在 SOD 的催化下歧化形成 H_2O_2,生成的 H_2O_2 又经过 Ascorbate-Glutathione 循环最终生成水(即 Asada 的水 - 水循环),或扩散到其他部位而发生进一步的转变。

另外,叶绿素能够介导$^1O_2$的产生。叶绿素是一种重要的光敏剂,吸收光能后激发形成单线态叶绿素(^{1}chl)。正常情况下,^{1}chl 以诱导共振的方式最终将能量传递给 PS Ⅰ 和 PS Ⅱ 的反应中心,但也不可避免地在光能过剩或逆境条件下,^{1}chl 通过系统转换形成三线态叶绿素(^{3}chl);^{3}chl 将其能量传递给$^3O_2$而形成$^1O_2$。

线粒体活性氧的产生　在呼吸链上,由于电子的漏出而发生$^3O_2$的单电子还原形成 O_2^-,其形成的主要位点为 NAD(P)H 脱氢酶和细胞色素 b/c 复合物(Boveris 和 Chance,1977;Beyer,1991;Mittler,2002),后者的还原物质很可能是(半)还原的 CoQ。生成的 O_2^- 可在 Mn - SOD 的作用下形成 H_2O_2。在光合细胞中,由于全部叶绿体中的电子传递速率很容易超过全部线粒体中的电子传递速率,因而,线粒体中 O_2^- 的绝对生成速率可能要比叶绿体中的低很多。如在辣椒果实的线粒体中,传给 O_2 分子的电子只占整个电子流的 1% 多一点。但是,在一些胁迫条件下(如低温等),线粒体在活性氧的产生中还是起到了很大的作用。

过氧化物体中活性氧的形成　过氧化物体是植物细胞产生 H_2O_2 的主要细胞器。H_2O_2 的产生有两条途径(Baker 和 Graham 2002;del Río 等,2002):光呼吸途径中乙醇酸在乙醇酸氧化酶的作用下,氧化生成乙醛酸,同时产生 H_2O_2;其次是由 O_2^- 歧化产生 H_2O_2。近年来,过氧化物体在其代谢中也不可避免地会产生 O_2^-(del Río 等,2006):如基质中黄嘌呤氧化酶的酶促反应,脂肪酸 β - 氧化反应等;膜的单电子还原$^3O_2$产生 O_2^-。

除了上述活性氧产生的主要部位和过程外,细胞的其他部位和代谢过程也可以产生活性氧(Pang 和 Wang,2007);质膜中 NADPH 氧化酶可产生 O_2^-;磷脂过氧化反应;氧化还原酶促反应;过渡金属离子催化的 Harber-Weiss 反应等。总之,植物细胞内活性氧的产生是多渠道、多途径的。它是细胞代谢不可避免的产物。在胁迫条件下,活性氧的产生增加。

(3) 活性氧对植物细胞的作用

植物生命活动中不可避免地要产生活性氧,它的产生对植物既有消极伤害的一面,又有积极、有益的一面,对其伤害作用研究得较为广泛和深入(Willekens 等,1997;Dat 等,2000)。在正常代谢条件下,活性氧的产生与清除处于动态平衡之中。一旦此平衡被打破,由于活性氧的高活性,势必给细胞造成破坏作用,使细胞受伤甚至死亡。

① 活性氧对植物细胞的伤害

细胞结构和功能受损　高氧环境诱导活性氧的增加,对细胞结构和功能造成很大损害。使叶绿体发生明显的膨胀,类囊体垛叠而成的基粒出现松散或崩裂。线粒体也易受到活性氧的攻击。高氧环境下培养 3 d 的水稻芽鞘线粒体出现肿胀,嵴残缺不全,基质收缩或解体,部分线粒体甚至只剩下不完整的外膜。氧化磷酸化效率的指标(P/O)明显降低,内膜上的细胞色素氧化酶活性下降。

生长受抑　实验证实,当环境中氧浓度增加时会明显抑制植物的生长。以空气中(含氧 20%)培养的幼苗为对照(生长量为 100%),培养在氧浓度分别为 40%、60% 和 80% 的水稻幼苗,由于体内活性氧升高,其生长量仅为对照的 83%、66% 和 25%,且根比芽对高氧逆境更敏感。

轻度的活性氧伤害在解除高氧逆境后可恢复生长,重则不可逆致死。

诱发膜脂过氧化作用　**膜脂过氧化**(membrane lipid peroxidation)是指生物膜中不饱和脂肪酸在自由基诱发下发生的过氧化反应。膜脂分子碳氢侧链的亚甲基上氢原子的解离能较低,它在活性氧的作用下容易解脱而形成不稳定的脂质自由基(lipid radical,$R^{\cdot}$),并在 O_2 参与下进一步形成脂质过氧化物自由基(lipid peroxyradical,$ROO^{\cdot}$)。$ROO^{\cdot}$ 一方面夺取邻近膜脂分子的氢而形成脂质氢过氧化物(lipid hydroperoxide,ROOH)和一个新的 $R^{\cdot}$,使反应连续不断发生;另一方面 $ROO^{\cdot}$ 可自动转化为膜脂内过氧化物,并进一步降解成丙二醛(malondiadehyde,MDA)及其类似物,而新的脂质自由基又继续参与反应。这就是膜脂过氧化自由基链式反应过程。

羟自由基($OH^{\cdot}$)是启动这一反应的直接因子,而其他 ROS 可转化为 $OH^{\cdot}$ 后诱发膜脂过氧化,膜中不饱和脂肪酸的含量降低,膜脂由液晶态转变成凝胶态,引起膜流动性下降,质膜透性大大增加。膜脂过氧化作用不仅可使膜相分离,破坏膜的正常功能,而且过氧化产物 MDA 及其类似物也能直接对植物细胞起毒害作用。

损伤生物大分子　活性氧的氧化能力很强,能破坏植物体内蛋白质(酶)、核酸等生物大分子。活性氧能够使很多的关键酶失活并引起它们的进一步降解,如乙醇脱氢酶、谷胱甘肽(GSH)合成酶、3-磷酸甘油酸脱氢酶、超氧化物歧化酶(SOD)、丙酮酸激酶等。除了使酶失活外,活性氧还能引起 DNA 断裂和蛋白质的水解。

② 活性氧对植物的有益作用

参与细胞的某些代谢过程　植物体内的许多酶促反应,往往以自由基的形式作为电子转移的中间产物。如 FMN 和 FAD 是很多黄素酶的辅基,在黄素酶的酶促反应中,电子从黄素转移时形成黄素半醌自由基,它是酶促反应实现电子转移的必要中间物;活性氧在植物代谢中另一重要作用是导致某些化合物的合成与分解,如细胞壁中木质素合成和降解反应均有 H_2O_2 的参与。

参与细胞抗病作用　当病原菌侵入植物体时,发生了与病原体识别作用有关的氧化激发或称**氧爆**(oxidative burst),并产生大量 O_2^- 与 H_2O_2,作为植物抗病性直接作用因子,在细胞外直接杀死病原体,或使细胞壁氧化交联起到加固效果,从而防止病原菌侵入,还在细胞内启动与抗病相关蛋白的基因表达。

参与乙烯的形成　乙烯的生物合成需要氧自由基的参与。目前的一种观点认为 O_2^- 通过激发乙烯合成酶(ethylene forming enzyme,EFE),从而促进乙烯释放。另一种观点认为 $OH^{\cdot}$ 直接作用于蛋氨酸而产生乙烯。

活性氧参与调节过剩光能耗散　光合作用包括光能固定和过剩光能耗散两方面。过剩能量传递给 O_2 将 O_2 激发形成 O_2^-、$OH^{\cdot}$、H_2O_2 等活性氧,然后又在 SOD、POD、CAT 等酶作用下发生猝灭,从而将过剩能量"消化"掉。研究证明,这一过程是植物消除过剩光能的一种合理保护机制。

参与气孔调节　近年来,越来越多的事实证明外界环境因子通过调节细胞质膜上的 NADPH 氧化酶(NADPH oxidase)活性,调节细胞外 H_2O_2 的浓度,从而调节气孔开关等。

因此,维持细胞内 ROS 产生与清除的平衡对植物的生长发育是非常重要的。

(4) 活性氧的清除与植物抗逆性

由于活性氧潜在的破坏作用,植物在进化过程中就产生了一套行之有效的活性氧清除系统。

在正常条件下,细胞活性氧的产生与清除处于动态平衡状态,活性氧的浓度保持在非伤害的低水平。在逆境条件下,活性氧的平衡被破坏,产生往往大于清除。因此,逆境条件下植物清除活性氧的能力与抗逆性有密切关系。

活性氧清除系统由非酶抗氧化剂和酶促抗氧化剂组成。在高等植物体内,非酶促抗氧化剂主要是一些低相对分子质量的化合物,主要有谷胱甘肽(GSH)、抗坏血酸(Asa)、维生素E、类黄酮、酚类化合物、不饱和脂肪酸、有机碱、类胡萝卜素、多元醇(如甘露醇)、花青素和甜菜素等。这些物质有的是水溶性的,如谷胱甘肽、抗坏血酸、多元醇、甜菜红素(betacyanins);有的是脂溶性的,如维生素 E、类胡萝卜素等,它们分布于膜上。因而,非酶抗氧化剂在细胞中的亚细胞定位不同,分布也不均一。如谷胱甘肽和抗坏血酸在叶绿体中的浓度可高达 5 ~ 25 mmol/L。这使得它们在清除活性氧的种类以及不同亚细胞器的活性氧中所起的作用不同。而花青素和甜菜红素则主要积累在液泡中,在细胞中如何参与活性氧清除还有争议,但越来越多的证据表明,花青素和甜菜素的确是重要的非酶抗氧化剂。非酶抗氧化剂既能直接与活性氧反应而起清除作用,也可以作为酶的底物在活性氧的清除中发挥重要作用(Pang 和 Wang,2007)。

酶促抗氧化剂为植物体提供了又一高效而专一的活性氧清除体系(表 1 - 1),主要有超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、单脱氢抗坏血酸还原酶(monodehydroascorbate reductase, MDHAR)和脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, DHR)等。如同非酶促抗氧化剂,这些酶系统在细胞中的定位不同,分布也不均一(Buchanan, Gruissen 和 Jones,2002)。有的是水溶性的,有的结合在膜上,并且多数酶有多种同工酶。不同的同工酶分布在细胞的不同部位,清除活性氧的功能也不同;加之酶的专一性较强,清除活性氧的种类也就因酶而异。其中,SOD 催化 O_2^- 与 H^+ 生成 H_2O_2,而 CAT 和 APX 催化 H_2O_2 生成 H_2O 和 O_2。其他酶参与抗坏血酸和胱甘肽的再生。因此,酶促和非酶促抗氧化剂并不是孤立的,而是相互联系,相互作用,彼此构成一个复杂的抗氧化网络。

近年来的研究发现,交替氧化酶(alternative oxidases, AOXs)在降低活性氧的产生方面具有重要作用。AOXs 改变了呼吸链上的电子传递方向,使电子传给 O_2 生成 H_2O。这样,AOXs 一方面限制了电子还原 O_2 形成 O_2^-,同时也降低了活性氧产生的反应底物(O_2)的水平,从而降低了活性氧的产生。线粒体中 AOX 含量降低的植物对氧化胁迫的敏感性升高;正常植物在强光下,转基因植物在缺乏 APX 或 CAT 的情况下都引起 AOX 的诱导合成,这些都是 AOXs 在抗氧化作用的佐证。

植物对逆境引起的氧化胁迫也具有相应的适应和抵抗能力,表现在其体内具有完善的抗氧化防御系统,又称活性氧清除系统,包括酶促系统和非酶促性的活性氧清除剂(抗氧化剂)。

植物在逆境下受到的伤害以及植物对逆境抵抗能力往往与体内的 SOD 活性水平有关。但是,逆境下 SOD、POD、CAT 以及其他酶类相互协调,有效地清除代谢过程产生的活性氧,使生物体内活性氧维持在低水平上,从而防止了活性氧引起的膜脂过氧化及其他伤害过程可能是抗逆性的重要方面。

表 1-1 植物细胞中清除 ROS 酶及其催化的反应

酶	酶学委员会代码	催化的反应
超氧化物歧化酶	1.15.1.1	$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \leftrightarrow 2H_2O_2 + O_2$
过氧化氢酶	1.11.1.6	$2H_2O_2 \leftrightarrow O_2 + 2H_2O$
谷胱甘肽过氧化物酶	1.11.1.12	$2GSH + PUFA - OOH \leftrightarrow GSSG + PUFA + 2H_2O$
谷胱甘肽硫转移酶	2.5.1.18	$RX + GSH \leftrightarrow HX + R - S - GSH$
磷脂-过氧化氢谷胱甘肽过氧化物酶	1.11.1.9	$2GSH + PUFA - OOH(H_2O_2) \leftrightarrow GSSG + 2H_2O$
抗坏血酸过氧化物酶	1.11.1.11	$Vc + H_2O_2 \leftrightarrow DHA + 2H_2O$
愈创木酚型过氧化物酶	1.11.1.7	供体 $+ H_2O_2 \leftrightarrow$ 氧化的供体 $+ 2H_2O$
单脱氢抗坏血酸还原酶	1.6.5.4	$NADH + 2MDHA \leftrightarrow NAD^+ + 2Vc$
脱氢抗坏血酸还原酶	1.8.5.1	$2GSH + DHA \leftrightarrow GSSG + Vc$
谷胱甘肽还原酶	1.6.4.2	$NADPH + GSSG \leftrightarrow NADP^+ + 2GSH$

R 代表脂肪族(aliphatic)、芳香族(aromatic)或杂环(heterocyclic)基团;X 代表硫酸根(sulfate)、亚硝酸根(nitrite)或卤素(halide)基团;GSSG:氧化型谷胱甘肽;PUFA:多不饱和脂肪酸(引自 Blokhina 等,2003)。

1.3.3 渗透调节与植物抗逆性

干旱、盐碱和高温等多种逆境都会对植物产生直接或间接的水分胁迫。水分胁迫时植物体内主动积累各种有机和无机物质来提高细胞液浓度,降低渗透势,提高细胞保水能力,从而适应水分胁迫环境,这种因植物细胞通过主动积累各种有机和无机物质来提高细胞液浓度,降低渗透势而表现出的调节作用称为**渗透调节**(osmotic adjustment)。渗透调节是在细胞水平上进行的,即由细胞通过合成和吸收积累对细胞无害的溶质来完成,其主要功能在于维持膨压,从而维持原有的生理过程,如气孔开放、细胞伸长、植株生长以及其他一些生理生化过程,是植物抵抗逆境的一种重要机制。

参与渗透调节物质的种类很多,大致可分为两大类:一是由外界进入细胞的无机离子;二是在细胞内合成的有机物质。逆境下细胞内常常累积无机离子来降低渗透势,特别是盐生植物常常依靠这种方式来调节渗透势,这些离子包括 K^+、Na^+、Ca^{2+}、Mg^{2+}、Cl^-、NO_3^-、SO_4^{2-}。无机离子累积数量和种类与植物种类和器官及环境中离子种类和浓度有关。例如,非盐生植物渗透调节物质通常为 K^+,而 Na^+、Cl^- 等常是盐生植物的渗透调节物质。无机离子进入细胞后,主要累积在液泡中,因此无机离子主要是作为液泡的渗透调节物质。但是,高浓度的无机离子,一方面往往也会引起代谢紊乱,另一方面要与细胞质渗透势平衡。因此,细胞质也必须积累有机渗透调节物质,又称**相容性溶质**(compatible solutes)。作为有机渗透调节物质必须具备以下一些特征:①相对分子质量小,不超过 1 000,如脯氨酸 115,甜菜碱 117,可溶性糖 150 ~ 720,游离氨基酸 75 ~ 144,多元醇 135 ~ 1 000。根据 Van't Hoff 公式,$\psi_s = -CiRT$,渗透势只与溶质颗粒的浓度有关而与相对分子质量大小无关,因此相对分子质量小的有机物合成时需要较少的能量;②易溶于水,全部含有亲水基团;③在生理 pH 范围内呈电中性,因此不会干扰细胞的电荷平衡;④能为细胞膜所保持;⑤能与其他物质相容(compatible),不会影响物质的代谢,本身不改变酶结构,且能维持酶结构的稳定;⑥生成迅速,且能积累到足以引起渗透调节的量;⑦逆境解除后能被植物转化利用等。

脯氨酸(proline)是最重要和有效的有机渗透调节物质之一。几乎所有的逆境,如干旱、低

温、高温、冰冻、盐渍、低 pH、营养不良、病害、大气污染等都会造成植物体内脯氨酸的累积，尤其干旱胁迫时，脯氨酸累积最多，可比原始含量高几十倍甚至几百倍。脯氨酸的累积是由脯氨酸合成酶的活化、生物降解的抑制以及参与合成蛋白的减少而产生的。脯氨酸存在于细胞质中，其在抗逆中的作用是：①作为渗透调节物质，保持原生质与环境的渗透平衡，防止失水；②脯氨酸与蛋白质结合，能增强蛋白质的水合作用，增加蛋白质的可溶性和减少可溶性蛋白质的沉淀，保护这些生物大分子结构和功能的稳定（Buchanan，Gruissen 和 Jones，2002）。

除脯氨酸外，其他游离氨基酸和酰胺也可在逆境下起渗透调节作用，如水分胁迫下小麦叶片中天冬酰胺、谷氨酸等含量增加，但这些氨基酸的积累通常没有脯氨酸显著。

甜菜碱是另一类重要的细胞质渗透调节物质，甜菜碱（betaines）是一类季胺化合物，化学名称为 N－甲基代氨基酸，通式为 $R_4 \cdot N \cdot X$。植物中的甜菜碱主要有 12 种，其中甘氨酸甜菜碱（glycinebetaine）是最简单也是最早发现、研究最多的一种，丙氨酸甜菜碱（alaninebetaine）和脯氨酸甜菜碱（prolinebetaine）也是较为重要的甜菜碱。植物在干旱、盐渍条件下会发生甜菜碱的累积，抗性品种尤为显著，和脯氨酸一样，甜菜碱也主要分布于细胞质中，具有渗透调节和稳定生物大分子的作用。在正常植株中甜菜碱含量比脯氨酸高 11 倍左右；在水分亏缺时甜菜碱积累比脯氨酸慢，解除水分胁迫时，甜菜碱的降解也比脯氨酸慢。

可溶性糖也是一类渗透调节物质，包括棉子糖族寡糖、蔗糖、葡萄糖、果糖、半乳糖等。比如低温逆境下植物体内常常积累大量的可溶性糖。可溶性糖主要来源于淀粉等碳水化合物的分解以及光合产物形成过程中直接转向低相对分子质量的蔗糖等物质。此外盐藻等单细胞生物则在高盐等逆境条件下把光合作用产生的糖主要转化为甘油作为渗透调节物质。

棉籽糖族寡糖（raffinose family oligosaccharides，RFOs）（即棉籽糖，水苏糖及其更高级同系物）是近年来发现的植物重要的非结构性糖类，它广泛存在于各种高等植物中并参与渗透调节和抗性。这些棉籽糖族成员在结构上有共同之处，就是以蔗糖分子为基础，依次以 α－（1→6）键合的吡喃半乳糖残基，连接在蔗糖的葡萄糖部分，以形成四糖、五糖、六糖以至九糖。

棉籽糖族寡糖的积累能增强从藻类到被子植物对冷、热和干旱抗性。最近，已报道肌醇半乳糖苷及棉籽糖可作为干旱胁迫下植物的渗透保护物质。RFOs 还与松科植物松针的寿命、抗臭氧、抗硫化物的能力密切相关。

RFOs 潜在的胁迫抗性作用，特别是有关干燥抗性和失水状态种子寿命，已在种子中进行了广泛研究。单子叶植物种子主要含棉籽糖，而双叶植物种子则积累水苏糖及更高级的同系物。RFOs 在大多数成熟、耐干燥的种子中含量丰富，而不耐干旱的种子中含量稀少或不存在。RFOs 的积累与种子成熟过程干燥抗性的形成相关，其含量与贮存时种子寿命呈正相关。尽管存在这种相关性，但大量的 RFOs 并不是干燥耐性或干燥状态种子寿命所必需的。另外，棉籽糖与蔗糖混合物可有效保护豌豆胚原生质体免遭失水胁迫带来的伤害。种子积累 RFOs 主要是作为易于代谢的碳源为种子萌发提供能量。推测 RFOs 参与保护膜、蛋白质、核酸免遭种子干燥失水时产生的伤害。种子失水过程中 RFOs 能与磷脂亲水头部相互作用，取代水，从而维持膜的完整性。正是 RFOs 的这种能力才使其具有保护作用。磷脂失去水分子会导致生理温度下膜相的转变。如果水是可利用的，这些转变与膜的渗漏、细胞死亡有关。Hoekstra 等（1991）指出 RFOs 降低膜相转变的温度，抑制细胞溶质的渗漏。而且，在种子成熟过程中由于自由基清除系统在低水分状态下不起作用，引起自由基积累对细胞组分和结构产生伤害。RFOs 可能形成黏滞的玻璃体状态

(液体黏度很高以至像固体的状态),阻止分子间相互作用,避免对膜和大分子产生伤害。种子这种玻璃体状态似乎可作为天然的稳定器防止退化变质反应。RFOs 具有特别突出的形成玻璃体状态的能力,因此被认为是种子耐贮存所必需的成分。

海藻糖(trehalose)是由两个葡萄糖通过 α,α-1,1-糖苷键连接而成的非还原性双糖,它在细菌、真菌、无脊椎动物中作为一种可溶性溶质对逆境下的生物结构有保护作用(Elbein 等,2003)。在很长一段时间里,除了一些更苏类植物外,在高等植物中并未发现海藻糖的存在,直到到了 1997 年,在研究提高作物抗逆性的实验中,研究者在野生型及转基因的西红柿、马铃薯中检测到了微量的海藻糖。近年来,关于海藻糖与植物抗盐性的研究也有零星报道。用外源海藻糖处理,或利用分子生物学手段将海藻糖基因转入植物体,使其积累一定量海藻糖,都发现植物表现出较高的抗旱性或抗盐性(Miranda 等,2007)。另有资料表明用外源海藻糖浸种处理小麦种子,可降低盐胁迫下细胞电解质的渗透率,防止叶绿素的降解,提高干物质的积累和植物生长速率,但海藻糖提高植物抗盐性的机理尚不清楚。我们以盐敏感小麦鲁麦 15 为材料,用 NaCl 和海藻糖溶液处理小麦幼苗,对盐胁迫下小麦幼苗生长、离子含量、SOD 活性、根系质膜 H^+-ATPase 等指标进行测定。结果表明外源海藻糖可明显缓解盐胁迫对小麦幼苗生长的抑制作用;明显提高 NaCl 胁迫条件下小麦幼苗叶片中 K^+ 的含量,降低 Na^+ 的含量,降低其 Na^+/K^+ 比;提高 NaCl 胁迫条件下小麦幼苗 SOD 的活性,降低 MDA 的含量,降低细胞质膜透性,缓解根系质膜 H^+-ATPase 活性的抑制(丁顺华等,2005)。植物中主要有机渗透调节物质分子总结于图 1-5。

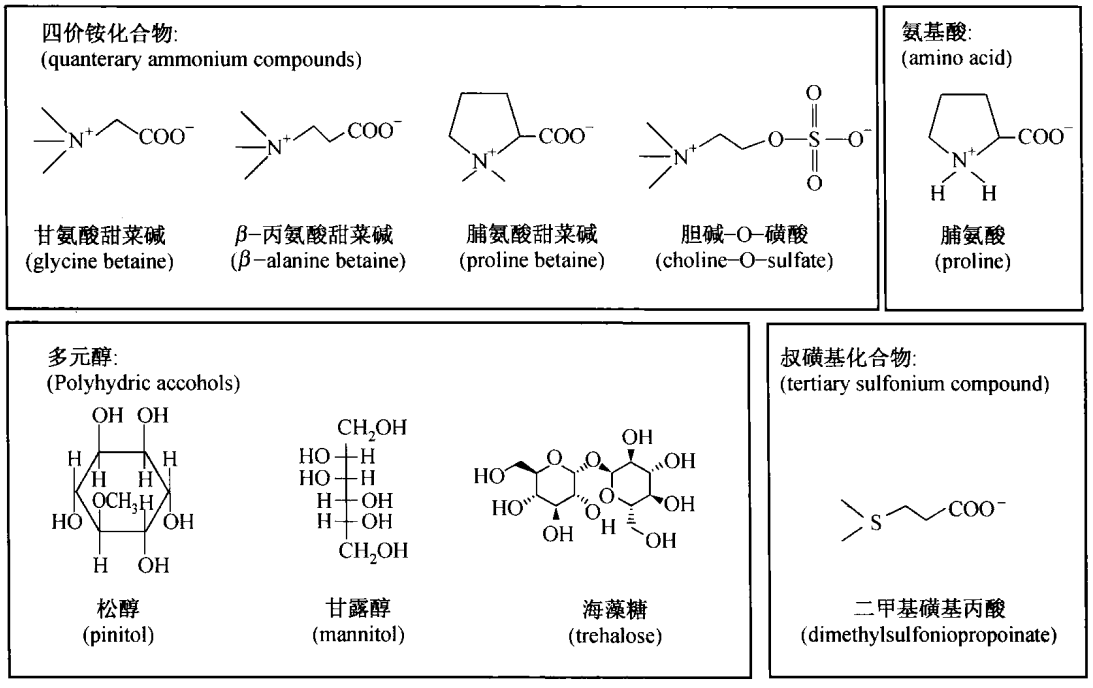


图 1-5 植物中主要的有机渗透调节分子

植物在逆境下的渗透调节是对逆境的一种适应性的反应,不同植物对逆境的反应不同,因而细胞内累积的渗透调节物质种类和数量也不同,但都在渗透调节过程中起作用。

应该指出,参与渗透调节的溶质浓度的增加不同于通过细胞脱水和收缩所引起的溶质浓度的增加,也就是说渗透调节是细胞溶质浓度的净增加,而不是由于细胞失水、体积减小而引起的溶质相对浓度的增加。虽然后者也可以达到降低渗透势的目的,但是只有前者才是真正意义上的渗透调节。在生产实践中,也可用外施渗透调节物质的方法来提高植物的抗性。

1.3.4 激素与植物抗逆性

逆境通过促使植物体内激素的含量和活性发生变化,并通过这些变化来影响植物生理过程。实验发现,在逆境条件下,ABA 和乙烯含量增加,IAA、GA 和 CTK 含量降低,其中以 ABA 的变化最为显著(Buchanan 等,2000)。

ABA 是一种**胁迫激素**(stress hormone),它在激素调节植物对逆境的适应中显得最为重要。ABA 主要通过关闭气孔、保持组织内的水分平衡、增强根对水的透性等来增加植物的抗性。在低温、高温、干旱和盐渍等多种胁迫下,体内 ABA 含量大幅度升高,这种现象的产生是因逆境胁迫增加了叶绿体膜对 ABA 的通透性,并加快根系合成的 ABA 向叶片的运输及积累所致。在逆境条件下,许多植物增加的 ABA 含量与其抗性能力呈正相关。

近年来,研究干旱对植物的胁迫时提出了根冠通讯理论,至今已对根源信号的产生、传递及其作用有了较为清晰的认识:植物气孔具有对变化的环境做出最优化反应的能力。当土壤逐渐变干时,处于干旱中的根系脱水,产生某种信号,这些信号随木质部水流移动到地上部发挥作用,信号强度增加使生长速率与气孔导度降低,以防止细胞的进一步失水,而这一信号物质主要为 ABA(Davies 和 Zhang,1991)。外施适当浓度(11^{-6} ~ 11^{-4} mol · L^{-1})的 ABA 溶液可以提高作物的抗寒、抗旱和抗盐性,其原因可能是:ABA 可延缓 SOD、CAT 等酶活性的下降;提高膜脂不饱和度;促进渗透调节物质的增加及促进气孔关闭等。

植物在干旱、大气污染、机械刺激、化学胁迫、病害等逆境下,体内逆境乙烯成几倍或几十倍的增加,当胁迫解除时则恢复正常水平,组织一旦死亡乙烯就停止产生。逆境乙烯的产生可使植物克服或减轻因环境胁迫所带来的伤害,促进器官衰老,引起枝叶脱落,减少蒸腾面积,有利于保持水分平衡;乙烯可提高与酚类代谢有关的酶类(如苯丙氨酸解氨酶、多酚氧化酶、几丁质酶)的活性,并影响植物呼吸代谢,从而直接或间接地参与植物对伤害的修复或对逆境的抵抗过程。

当叶片缺水时,内源赤霉素活性迅速下降,赤霉素含量的降低先于 ABA 含量的上升,这是因赤霉素和 ABA 的合成前体相同的缘故。

叶片缺水时,叶内 ABA 的含量增加,细胞分裂素含量减少,吲哚乙酸氧化酶活性随叶水势下降而直线上升,吲哚乙酸含量下降。

各种激素在逆境中的反应速度有差异。如植物在缓慢缺水时乙烯生成先于 ABA,植株失水迅速,ABA 的积累则快于乙烯。

许多实验表明,多种激素的相对含量对植物的抗逆性更为重要。如抗冷性较强的柑橘品种国庆 1 号和抗冷性弱的锦橙在抗冷锻炼期间,前者体内 ABA 含量高于后者,而赤霉素含量低于后者。同一品种在抗冷锻炼期间,随着 ABA/GA 的比值升高,抗冷性逐渐增强,而在脱锻炼期间,随着 ABA/GA 的比值降低,抗冷性也逐渐减弱。

目前的研究结果表明,植物激素可能是抗逆性基因表达的启动因素,逆境条件改变了植物体内源激素的平衡状况,从而导致代谢途径发生变化,这些变化很可能是抗逆性基因活化表达的结

果。这方面关于逆境下 ABA 参与的抗逆性基因表达做了大量深入细致的研究,表明某些抗逆性基因表达是 ABA 依赖的,而另一些则是非 ABA 依赖的。

1.3.5 逆境蛋白与植物抗逆性

近年来随着分子生物学的发展,人们对植物抗逆性的研究不断深入。现已发现多种因素刺激(如高温、低温、干旱、病原菌、化学物质、缺氧、紫外线等)都会抑制原来正常蛋白的合成,同时诱导形成新的蛋白质(或酶),这些在逆境条件下诱导产生的蛋白质可统称为**逆境蛋白**(stress proteins)。植物在逆境下合成逆境蛋白具有广泛性和普遍性(Buchanan 等,2000)。

热激蛋白　在高于植物正常生长温度刺激下诱导合成的新蛋白称**热激蛋白**(heat shock protein,HSPs)又称为热休克蛋白。一般认为高于其生长最适温度的 11 ~ 15 ℃时 HSP 即迅速合成。根据 HSP 的相对分子质量命名为 HSP90、HSP70、HSP60 等。研究发现,HSP 家族中很大一部分属于**伴侣蛋白**(chaperone,Cpn)。所以,也有将 HSP 改写为 Cpn,相应地命名为 Cpn60、Cpn70、Cpn90、Cpn110 和小分子 Cpn 蛋白(相对分子质量 $17 \times 10^3 \sim 30 \times 10^3$)。HSP 的产生在植物界具有普遍性,从低等的酵母到农业生产中常见的粮食作物(如大麦、小麦)、油料作物(如大豆、油菜)、蔬菜(如胡萝卜、番茄)以及棉花、烟草等都有。

伴侣蛋白是一类辅助蛋白分子,主要参与植物体内新生肽的运输、折叠、组装、定位以及变性蛋白质的复性和降解。生物体受热激伤害后体内蛋白质变性剧增,热激蛋白可与这些变性蛋白质结合,维持它们的可溶状态或使其恢复原有的空间构象和生物活性。热激蛋白也可以与一些酶结合成复合体,使这些酶的热失活温度明显提高。高温驯化过的植物,在高温下的存活能力与热激蛋白的存在有关。所以热激蛋白与植物的抗热性有关。

植物对热激反应是很迅速的,热激处理 3 ~ 5 min 就能发现 HSPmRNA 含量增加,20 min 可检测到新合成的 HSP。处理 30 min 后,大豆黄化苗 HSP 合成已占主导地位,正常蛋白合成则受阻抑。

低温诱导蛋白　植物经一段时间的低温处理后会合成一些特异性的新蛋白质,称为**低温诱导蛋白**(low-temperature-induced proteins),也称冷响应蛋白(cold responsive proteins)、冷击蛋白(cold shock proteins),如同工蛋白、抗冻蛋白(antifreeze protein)、胚胎发育晚期丰富蛋白(LEA)等,这些新蛋白质的出现与植物抗寒性的提高有关,例如同工蛋白,它能代替"原来"的酶蛋白(低温不能合成)行使功能;抗冻蛋白具有减少冻融过程对类囊体膜等生物膜的伤害、防止某些酶因冰冻而失活的功能。

低温诱导蛋白的出现还与温度的高低及植物的种类有关。水稻在 5 ℃、冬油菜在 0 ℃处理均能形成新的蛋白。一种茄科植物(*Solanum commerssonii*)的茎愈伤组织在 5 ℃处理的第一天就诱导 3 种蛋白合成,但若回到 20 ℃,则 1 d 后便停止合成,并逐渐消失。

渗调蛋白　无论干旱或盐渍都能诱导出一些逆境蛋白,其中研究较多且较为重要的是相对分子质量为 26×10^3 蛋白,该蛋白在盐适应细胞中的含量相当高,可达总蛋白质的 11% ~ 12%。该蛋白质的合成和积累是发生在细胞对盐或干旱胁迫进行逐级渗透调整过程,故将其定名为**渗调蛋白或渗压素**(osmotin),它的产生有利于降低细胞的渗透势和防止细胞脱水,有利于提高植物对盐和干旱胁迫的抗性。

病原相关蛋白(pathogenesis related proteins,PRs)　也称病程相关蛋白,是植物被病原菌感染

后形成的与抗病性有关的一类蛋白。自从在烟草中首次发现以来,至少在20多种植物中发现了病原相关蛋白的存在。

PRs在植物体内的积累与植物局部诱导抗性和系统诱导抗性有关。近年来的研究证实,PRs相对分子质量往往较小,一般不超过4×10^4,常具有几丁酶和β-1,3-葡聚糖酶活性,能够抑制病原真菌孢子的萌发,降解病原菌细胞壁,抑制菌丝生长。β-1,3-葡聚糖酶分解细胞壁的产物还能诱导与其他防卫系统有关的酶系,从而提高植物抗病能力。

其他逆境蛋白　缺氧环境下植物体内会产生**厌氧蛋白**(anaerobic protein);紫外线照射会产生**紫外线诱导蛋白**(UV-induced protein);施用化学试剂会产生化学试剂诱导蛋白(chemical induced protein)等。

逆境蛋白可在植物不同生长阶段或不同器官中产生,可存在于不同的组织中。组织培养条件下的愈伤组织以及单个细胞在逆境诱导下也能产生逆境蛋白。

逆境蛋白在亚细胞的定位较为复杂。它可存在于胞间隙(如多种病原相关蛋白)、细胞壁、细胞膜、细胞核、细胞质及各种细胞器中。特别是细胞质膜上的逆境蛋白种类很丰富,而植物的抗性往往与膜系统的结构和功能有关。

逆境蛋白是在特定的环境条件下产生的,通常使植物增强对相应逆境的适应性。例如,热预处理后植物的耐热性往往提高;低温诱导蛋白与植物抗寒性提高相联系;病原相关蛋白的合成增加了植物的抗病能力;植物耐盐性细胞的获得也与盐逆境蛋白的产生相一致。有些逆境蛋白与酶抑制蛋白有同源性,有的逆境蛋白与解毒作用有关。

逆境蛋白的产生是基因表达的结果,逆境条件使一些正常表达的基因被关闭,而一些与适应性有关的基因被启动。从这个意义上讲,逆境蛋白的产生也是植物对多变外界环境的主动适应和自卫。

但是,也有研究表明,逆境蛋白不一定就与逆境或抗性有直接联系。表现在以下方面:①有的逆境蛋白(如HSPs)可在植物正常生长、发育的不同阶段出现,似与胁迫反应无关;②有的逆境蛋白产生的量与其抗性无正相关性。如在同一植株上下不同叶片中病原相关蛋白量可相差达11倍,但这些叶片在抗病性上并没有显著差异;③许多情况下没有逆境蛋白的产生,但植物对逆境同样具有一定的抗性。

虽然关于逆境蛋白的调控可以在转录和翻译水平上进行。但是,关于各种刺激的接受、信号的传递、转换以及逆境蛋白在植物抗逆性中的作用等有待深入研究。

1.3.6 植物对逆境的交叉适应

生长在自然环境中的植物,常常会遭受不同逆境的胁迫,任何一种逆境都会影响或干扰植物的正常生理过程,而且各种逆境对植物的危害往往是相互关联的,如干旱往往伴随着高温,反过来高温也会引起干旱;又如盐分胁迫有时也会引起水分胁迫等;许多生长在滩涂盐碱地的盐生植物既受到高盐胁迫也受到涝害(潮水浸没)。植物对各种逆境的适应也是相互联系的,如抗旱锻炼不仅能提高植物的抗旱性,而且也能提高植物的抗冷性。

植物与动物一样,也存在着交叉适应现象,即植物经历了某种逆境后,能提高对另一些逆境的抵抗能力,这种对不良环境间的相互适应作用称为**交叉适应**(cross adaptation)。如低温、高温等8种逆境刺激都可提高植物对水分胁迫的抗性;缺水、盐渍等预处理可提高植物对低温和缺氧

的抗性;低温锻炼和轻度干旱可增加某些植物的抗冻性等。这些交叉适应现象表明植物对不同逆境的适应存在着某些共同的生理基础。植物在逆境条件下会导致 ABA 含量增加,ABA 作为逆境的信号激素诱导植物发生某些适应性的生理代谢变化,增强植物的抗逆性,因此就可以抵抗其他逆境,即形成了交叉适应性。实验证实,外施 ABA 能提高植物对多种逆境的抗性。

逆境蛋白的产生也是交叉适应的表现,一种刺激(逆境)可使植物产生多种逆境蛋白。如一种茄属植物(*Solanum commerssonii*)茎愈伤组织在低温诱导的第一天产生相对分子质量为 21.1×10^3、22×10^3 和 31.1×10^3 三种蛋白,第七天则产生相对分子质量均为 83×10^3 而等电点不同的另外三种蛋白。多种刺激可使植物产生同样的逆境蛋白。缺氧、水分胁迫、盐、脱落酸、亚砷酸盐和镉等都能诱导 HSPs 的合成;多种病原菌、乙烯、乙酰水杨酸、几丁质等都能诱导病原相关蛋白的合成。

多种逆境条件下,植物都会积累脯氨酸等渗透调节物质,植物通过渗透调节作用可提高对逆境的抵抗能力。

生物膜在多种逆境条件下有相似的变化,而多种膜保护物质(包括酶和非酶的有机分子)在胁迫下可能发生类似的反应,使细胞内活性氧达到动态平衡。

主要参考文献

1 丁顺华,李艳艳,王宝山. 外源海藻糖对小麦幼苗耐盐性的影响. 西北植物学报,2005,25(3):513~518.

2 王宝山. 植物生理学. 2 版. 北京:科学出版社,2007.

3 赵可夫,李法曾. 中国盐生植物. 北京:科学出版社,1999.

4 简令成,王红. 逆境植物细胞生物学. 北京:科学出版社,2009.

5 杨福愉. 生物膜. 北京:科学出版社,2009.

6 隋森芳. 膜分子生物学. 北京:高等教育出版社,2003.

7 Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Ann Rev of Plant Physiol and Plant Mol Biol,1999,50:601~639.

8 Apel K,Hirt H. Reactive oxygen species:Metabolism,Oxidative Stress,and Signal Transduction. Annu Rev Plant Biol,2004,55:373~99.

9 Baker A,Graham I. Plant Peroxisomes. Biochemistry,cell biology and biotechnological applications. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers,2002.

10 Beyer R. An analysis of the role of coenzyme Q in free radical generation and as an anti-oxidant. Biochem Cell Biol,1991,70:390~343.

11 Blokhina O,Virolainen E,Fagerstedt K V. Antioxidants,oxidative damage and oxygen deprivation stress:a review. Annals of Botany,2003,91:179~194.

12 Boveris A,Chance B. Mitochondrial production of superoxide radical and hydrogen peroxide. //Reivich M, Coburn R,Lahiri S,Chance B. Tissue Hypoxia and Ischemia,New York:Plenum Press,1997,67~82.

13 Buchanan B B,Gruissem W,Jones R L. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. Rockville Maryland:The American Society of Plant Physiologists,2000.

14 Davies W J,Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,1991,42:55~76.

15 del Río L A, Corpas F J, Sandalio *et al*. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. J Exp Bot, 2002, 3: 1255 ~ 1272.

16 del Río L A, Sandalio L M, Corpas F J, Palma J M, Barroso J B. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. Plant Physiology, 2006, 141: 330 ~ 335.

17 Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 2002, 7: 405 ~ 410.

18 Nilson E T, Orcutt D M. The Physiology of Plants Under Stress. New York: John Wiley & Sons, INC, 1996, 13 ~ 49.

19 Pang C H, Wang B S. Oxidative stress and salt tolerance. //Luettge U, Beyschlag W, Murata J. Progress in Botany. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2007, Vol 69: 231 ~ 245.

思考题

1. 为什么称 ABA 为 stress hormone? 举例说明 ABA 如何参与植物对某种逆境的应答?
2. 什么叫 ROS(reactive oxygen species)? 植物细胞产生和清除 ROS 的途径有哪些? ROS 对植物生长发育有害和有利的作用有哪些?
3. 渗透调节物质主要有哪些? 有什么共同特征? 植物细胞在高盐环境中如何进行渗透调节?
4. 植物生长的指标有哪些? 如何定量测定这些指标? 哪些生长指标更能反映植物抗性强弱? 植物如何通过调节生长来适应逆境?
5. 为什么植物对不同逆境会作出交叉适应?

2 盐渍逆境植物生物学

植物生长环境中矿质元素过多或必需矿质元素过少都会影响植物的生长和发育，关于氮、磷、钾三大必需元素缺乏对植物的影响，特别是有关分子机理和信号转导途径近年来取得了很大进展，另外，重金属胁迫下的植物生物学也进展迅速。在本书将主要介绍盐渍生境下的植物生物学。

植物的抗盐性是植物长期生活在盐渍生境中逐渐产生适应而形成的。所谓盐渍生境，其主要特点是盐离子（主要是 Na^+ 和 Cl^-）含量比较高，这对植物可以产生两种直接胁迫，一是土壤高离子浓度造成的**渗透胁迫**（osmtic stress），二是离子本身产生的离子毒害——**离子胁迫**（ionic stress）。前者导致土壤水势下降，使植物吸水困难，甚至引起细胞脱水，后者导致细胞离子稳态（ionic homeostasis）紊乱，影响植物的正常生理代谢，干扰植物代谢过程，从而抑制植物的生长发育，严重时可以导致植物死亡。其次，渗透胁迫和离子胁迫还会导致 ROS 积累产生**氧化胁迫**（oxidative stress）。显然，要使植物在盐渍生境中不受干扰，正常生长和发育，植物必须具备克服这些胁迫的适应机制，才可能适应盐渍生境，这就是植物的抗盐性。盐渍逆境植物生物学就是探讨盐生植物起源、种类、分布、结构及适应盐碱土壤的生理生化代谢及分子机理。

按照植物抗盐性可以把植物分为两种类型：一类能在盐渍生境中正常生长和发育，并且可以完成其生活史，这类植物被称为**盐生植物**（halophyte）；另一类则不能在盐渍生境中正常生长和发育，其生长发育很容易受到盐分胁迫的伤害，开始时生长发育迟缓，后来受害死亡，这类植物称**非盐生植物**（nonhalophyte）或甜土植物（glycophyte）。显然，盐生植物和非盐生植物并不是分类学上的概念，所以同一科或属中有非盐生植物也有盐生植物。

现有的农作物基本上都属于非盐生植物。如何能使作物正常生长在盐渍生境中并能获得较高的产量，这是长期以来科学家研究的热点问题之一。当今世界人口急剧增长，耕地不断减少，急需开发利用世界上现存的大面积盐碱土地。而开发利用盐碱地，一方面要了解盐碱地形成的原因，土壤水盐运动规律，减少土壤盐分的积累，利用栽培措施提高单位面积生物量及经济产量；另一方面，要了解盐分危害植物的原因，特别是盐生植物抗盐机理，利用基因工程等手段培育抗盐作物新品种。

2.1 盐渍土壤的形成

2.1.1 盐的来源

土壤中的盐分，除来自宇宙尘埃和火山活动外，还来自岩石风化、灌溉和其他人类的活动（图2-1）。

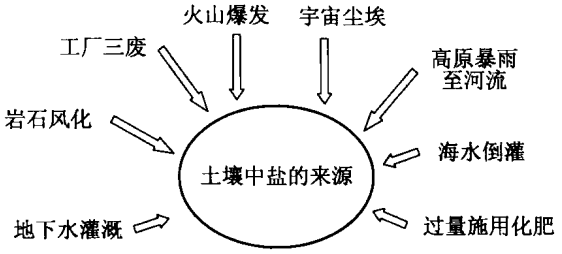


图2-1 土壤中盐的来源

（引自王宝山，2008）

火山爆发将大量可溶性盐类释放到大气中，从大气再降落到海洋或土壤，或者通过河流将可溶性盐流入海洋，使海洋中的盐分增加，日积月累，越来越多，这些盐类再通过一定的方式从海洋转移到陆地。可通过风吹，将海水带到陆地。实验表明，离海洋越近，土壤含盐量越高。也可以通过地下渗透将海水渗入到沿海的陆地。另外，沉积在海洋中的化石盐，也可以被重新溶解带到陆地上，或通过地下水流到植物根际，逐渐形成一定含盐量的盐渍土壤。

岩石中含有不少盐类，由于岩石的风化作用，使大量可溶性盐从岩石中分解出来，形成尘埃被风吹到空中，通过雨水再淋溶到土壤中，使土壤盐分不断增加。淋溶到土壤中的可溶性盐类，也会流入到地下水中，使地下水矿化度逐渐增大。在干旱季节，土壤蒸发量大于降雨量，矿化度高的地下水中的水分从土壤蒸发到大气中，而其中的可溶性盐即留在土壤的表层，日久天长，土壤表层的盐分越来越多，原来的非盐渍化的土壤即变成盐渍化土壤。

土壤本身也含有一些不溶性的盐分，经过土壤物理、化学及生物的作用，这些不溶性的盐分即变成可溶性的盐分，使土壤含盐量增加。如果采用矿化度较高的水灌溉农田，或者灌溉方法不当，例如大水漫灌，使地下水位上升，也造成土壤中盐分增加。我国黄河两岸大量使用黄河水灌溉导致大量农田次生盐渍化。

近年来，我国北方地区保护地栽培（塑料大棚等）发展迅速，为提高单位面积产量，而过量使用化肥导致大量农田次生盐渍化。

由于沿海城市超量开采地下淡水资源，使淡水地下水位显著下降，形成漏斗，而温室效应造成海平面上升。因此导致海水倒灌或入侵，也导致大量农田次生盐渍化。

另外，利用含盐量高的工业废水灌溉都会使土壤盐分增加，严重时造成土壤盐渍化。

可见，要防止农田次生盐渍化必须从控制向土壤输入可溶性盐入手，才能从根本上解决问题。

2.1.2 盐土、碱土、盐碱土和次生盐碱土

盐碱土是盐土和盐化土壤及碱土和碱化土壤的总称，又称盐渍土壤。

我国的盐碱土，除新疆的哈密、吐鄯、塔里木河沿岸以及松花江一带小面积的硝酸盐盐土外，主要含由 Na^+、Ca^{2+}、Mg^{2+} 三种阳离子及 CO_3^{2-}、HCO_3^-、Cl^-、SO_4^{2-} 四种阴离子组成的12种盐：

NaCl	Na_2SO_4	Na_2CO_3	$NaHCO_3$
$CaCl_2$	$CaSO_4$	$CaCO_3$	$Ca(HCO_3)_2$
$MgCl_2$	$MgSO_4$	$MgCO_3$	$Mg(HCO_3)_2$

根据上述盐类在水溶液中水解后所呈现的酸性和碱性反应,把它们分为中性盐和碱性盐两大类,其中中性盐主要是氯化物和硫酸盐,碱性盐包括碳酸盐和重碳酸盐。

盐土是指地表土层中含有大量可溶性中性盐类的土壤。目前国内计算盐土含盐量的指标及计算平均含盐量的土层深度,还没有完全统一的标准。通常,用表层土壤含盐量在0.6% ~2%范围内的为盐土。中性盐中的氯化物对植物的危害大于硫酸盐和硝酸盐,这也是为什么同一种植物在不同盐碱地上表现出抗盐性不同的原因,例如,许多在我国新疆生长的盐生植物却不能在类似含盐量的内陆盐碱地生长。在表层土壤中氯化物含量超过0.6%和硫酸盐超过2%时,对植物都会造成极大的危害,甚至使多数植物死亡(主要指非盐生植物)。当表层土壤中性盐含量超过0.2%时,对大部分农作物均可产生不同程度的危害,这种土壤称为盐化土壤或盐渍化土壤,也就是通常所说的盐碱地。盐土和盐化土壤总称为盐土类土壤。

关于计算平均含盐量的土层深度,目前,国内意见也不一致,不同地区有不同的标准。新疆地区多以0~30 cm深土层中的平均含盐量为计算盐土的土层深度;内陆滨海地区多用1 m深的土层平均含盐量;一般情况下,多用0~20 cm深耕作层土壤含盐量为标准。

碱土是指表层土壤中含碱性盐为主的土壤。这种土壤的溶液呈强碱性,pH≥8.5,一般含可溶性盐很少,土壤胶体吸附一定数量的交换性钠。关于碱土的分级标准问题,当今国内尚无统一的标准,一般多用土壤的碱化度作为指标,即土壤胶体吸附的交换性钠占交换性阳离子总数的百分数。所谓可交换性离子是指电荷吸附在土壤胶体颗粒表面的那部分离子。碱化度超过5%时,这种土壤称为碱化土壤;碱化度大于20%时,此种土壤称为碱土,碱化土壤和碱土合称为碱土类土壤。

盐土和碱土的主要特性总结于表2-1。

表2-1 盐土和碱土的主要特性(王宝山,2009)

土壤类型	盐的类型	主要盐类	含盐量(0~20 cm)	pH	植被情况
盐土	中性盐	氯盐和硫酸盐	0.2% ~2%	6.5~7.5	种类多
碱土	碱性盐	碳酸盐和重碳酸盐	碱化度(5% ~20%)	≥8.5	种类少

第二次世界大战以后,随着世界人口的急剧增加,人类对粮食的需求量也迅速增加。为了满足人类对粮食的需要,除了选用优良品种外,人们主要通过灌溉和大量使用化肥提高单位土地面积产量。这二项措施,尤其是不合理灌溉,都造成了大量可耕地的次生盐渍化。我国土壤次生盐渍化问题尤为严重。表2-2是全世界不同国家由于灌溉而产生的土地次生盐渍化面积及其分布情况。

表2-2 世界灌溉土地次生盐渍化面积(百万公顷)及分布

国家	可耕地	灌溉地	灌溉地占可耕地的百分数/%	次生盐碱地	次生盐碱地占灌溉地的百分数/%
中国	96.97	44.83	46.2	6.70	15.0
印度	168.99	42.10	24.9	7.00	16.6

续表

国家	可耕地	灌溉地	灌溉地占可耕地的百分数/%	次生盐碱地	次生盐碱地占灌溉地的百分数/%
英联邦国家	232.57	20.48	8.8	3.7	18.1
美国	189.91	18.10	9.5	4.16	23.0
巴基斯坦	20.76	16.08	77.5	4.22	26.2
伊朗	14.83	5.74	38.7	1.72	30.0
泰国	20.05	4.00	19.9	0.40	10.0
埃及	2.69	2.69	100.0	0.88	33.0
澳大利亚	47.11	1.83	3.9	0.16	8.7
阿根廷	35.75	1.72	4.8	0.58	33.7
南非	13.17	1.13	8.6	0.10	8.9
全世界	1 473.7	227.11	15.4	45.4	20.0

表中数据引自联合国粮农组织(FAO:1987—1989)。

2.1.3 盐碱土的分布

世界五大洲及其大多数岛屿的滨海地区和干旱、半干旱地区都有盐碱土地分布。但主要分布在亚洲和非洲地区,其次是大洋洲、中欧和东欧地区。亚洲以巴基斯坦、印度和中国为主。根据联合教科文组织(UNESCO)和粮农组织(FAO)不完全统计,全世界共有约9.5亿公顷盐碱地。

我国盐碱土地主要分布在长江以北地区,其中黄淮海平原、松辽平原、新疆、青海、宁夏等有大量盐碱地分布。按我国土壤化学特征,将我国盐碱土地分成8个土壤盐渍区:①内陆盆地极端干旱盐渍土区;②内陆盆地干旱盐渍土区;③内蒙高原半干旱盐渍土区;④东北平原半干旱半湿润盐渍土区;⑤黄淮海平原半干旱半湿润盐渍土区;⑥滨海盐渍土区;⑦西藏高原高寒和干旱盐渍土区;⑧热带和亚热带海岸盐沼区(即红树林区)。我国盐渍土壤总面积约1亿公顷(14.7亿亩),其中现代(活性)盐渍土壤约0.37亿公顷(5.54亿亩),残余盐渍化土壤(包括残余盐土和绝大部分含水溶性盐的漠境土壤)约为0.45亿公顷(6.73亿亩),潜在盐渍化土壤(包括一旦发展灌溉,由于采取的水利措施不当导致地下水位上升,而有可能发生次生盐渍化和次生碱化的各种土壤及一些心底土体中存在积盐层的土壤)约为0.17亿公顷(2.6亿亩)。

2.2 盐生植物与非盐生植物

植物对土壤盐分过多的适应能力或抗抵能力叫**抗盐性**(salt resistance)。根据植物抗盐性强弱可以将植物分为盐生植物(halophyte)和淡土(甜土)植物(glycophyte)[又称非盐生植物(non-halophyte)]。盐生植物的典型特征:能在高盐生境中生长;一定浓度NaCl促进其生长。典型的盐生植物只生长在含盐量高的土壤中。如藜科的盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)等当NaCl的浓度为10~50 mmol/L,明显促进其生长,当NaCl的浓度为100~200 mmol/L,对其生长促进最大,只生长在含盐量高的土壤中,红树、海蓬子和大米草等也是典型的盐生植物。非盐生植物大部分对盐渍敏感,如大豆、玉米和水稻等,当NaCl的浓度为10~50 mmol/L时就严重抑制其生长,这类植物叫**盐敏感植物**(salt-sensitive plants);而大麦、甜菜和番茄等耐受较高盐浓度,这类植物叫**耐盐植物**(salt-tolerant plants)。不同类型植物生长对盐的响应示如图2-2。

虽然在概念上划分盐生植物与非盐生植物，但给盐生植物下一个确切的定义却是十分困难的。主要原因是：①盐生植物类型繁多，有的是专性的，只能生长在盐碱土上，有的是兼性的，在盐碱土和甜土中都可以生长，并完成其生活周期；②盐生植物的抗盐机理不同，有的泌盐，有的拒盐，有的稀盐，有的兼而有之。另外，泌盐、拒盐和稀盐的方式也多种多样，所以也很难只根据其生理特点给盐生植物下一个定义；③盐生植物的耐盐范围很大，有的可以耐高浓度盐，2～7倍于海水，有的盐生植物只能耐很低浓度的盐，其耐盐水平接近一些耐盐的甜土植物，是盐生植物和甜土植物的过渡类型；④盐生植物在形态构造上也十分复杂，有的有盐腺，有的肉质化，有的兼而有之，有的既没有盐腺也不肉质化，所以从形态构造的特点上也很难给盐生植物下一个定义。尽管如此，仍有一些科学家试图探索盐生植物的特点，给盐生植物一个恰当的定义。早在1972年，Waisel在他编著的“Biology of Halophytes”一书中写道：“在高含盐量的生境中生长并完成其生活史的植物称之为盐生植物。”这个定义不够明确，没有规定生境的含盐量。Jennings于1976年提出，盐生植物是“盐渍生境中的天然植物区系”。他也没有规定生境的含盐量。1980年，Greenway等给盐生植物一个比较科学的定义，他在首先同意Jennings的定义的基础上，将盐渍生境的含盐量加以规定，认为盐生植物的盐渍生境是含有渗透压大于3.3×10^5 Pa（等于70 mmol/L单价盐）盐水的生境，在此生境中生长的自然植物区系就是盐生植物。1986年Flowers认为在100～200 mmol/L NaCl条件下能完成其生活史的植物为盐生植物。2008年Flowers和Colmer认为至少在200 mmol/L NaCl或以上条件下能完成其生活史的植物，才能称为盐生植物。可以看出，这个定义将一些甜土植物和盐生植物的中间过渡类型大多排除在外了，在这个定义中的盐生植物都是比较典型的，我们认为，可以采用这个定义。

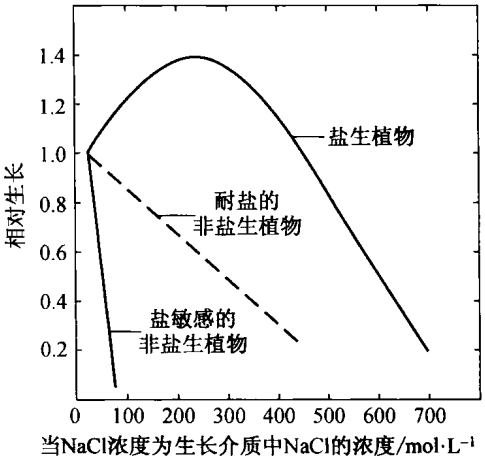


图2-2 不同类型植物对盐浓度的生长响应
（引自赵可夫和李法曾，1999）

真盐生植物绝大多数是双子叶植物，而单子叶植物则很少是盐生植物。

明确了盐生植物的概念后，非盐生植物的定义也就容易规定了，凡在上述生境中不能正常生长的植物区系则为非盐生植物。

2.3 盐生植物资源

盐生植物是宝贵的自然资源，关于盐生植物的起源、分布、抗盐机理及合理开发利用都是重要的研究课题。

2.3.1 盐生植物起源

大多数陆生被子植物都是非盐生植物，只有1%左右为盐生植物。现在一般认为陆生盐生植物由海洋藻类经陆地淡水藻类进化而来。早期陆生植物生活环境是非盐渍潮湿环境。在

进化过程中由苔藓植物、蕨类植物到裸子植物再到被子植物，其地上部分尤其至叶片逐渐产生气孔、角质、蜡质和表皮毛等各种表皮结构，这些保护性结构的产生使陆生被子植物能够扩大生存空间，可以在海岸、岛屿和盐渍地区生存，继而进化为盐生植物（图 2-3）。

目前，人们认为陆生盐生植物耐盐的生理生化和结构是后来获得的，也就是说陆生盐生植物已丧失了海洋细菌、藻类和真菌等初级耐盐特点（在海水中酶活性和膜完整性等均保持最佳状态）。由此，就产生一个问题，陆生盐生植物初级耐盐相关基因在进化过程中是丢失了呢？还是沉默了？还是调控方面出了问题，这些都是非常值得深入探讨的问题。

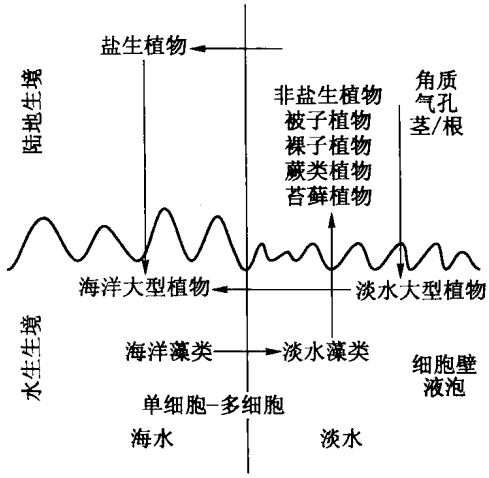


图 2-3 盐生被子植物从海洋藻类经淡水藻类到陆生被子植物的进化路线

（改自赵可夫和李法曾，1999）

2.3.2 盐生植物类型、种类及分布

（1）盐生植物类型

盐生植物可以根据其生活的环境分为水生盐生植物、中生盐生植物和旱生盐生植物。水生盐生植物其植物体的全部或部分生活在含盐量高的水中，如大叶藻和大米草等。中生盐生植物生活在含水量中等但含盐量较高的环境中，如碱蓬、二色补血草等。旱生盐生植物则生活在含水量低含盐量高的土壤中，如戈壁藜和盐生假木贼等。

根据盐生植物耐盐的生理基础，德国植物生态学家 Breckle（1995）根据盐生植物体内离子的积累和运输的特点，将盐生植物分为三大类：①**泌盐盐生植物**（recretohalophytes），其中又分为两类，一类是**向外泌盐的盐生植物**（exo-recretohalophytes），这类植物具有盐腺，通过盐腺（salt glands）将吸收到体内的盐分分泌到体外，如二色补血草等；另一类为**向内泌盐植物**（endo-recretohalophytes），它的叶表面具有盐囊泡（salt bladders），将体内的盐分分泌到囊泡中，暂时贮存起来如冰叶日中花和滨藜等；②**真盐生植物**（euhalophytes），其中又分为两个类型，即叶肉质化真盐生植物（leaf succulent euhalophytes）以及茎肉质化真盐生植物（stem succulent euhalophytes），盐离子积累在叶片肉质化组织及绿色组织的液泡中，如盐地碱蓬等；③**假盐生植物**（pseudo-halophytes），此类盐生植物将盐离子积累在薄壁组织的液泡和根部木质部薄壁组织中，如芦苇等，以上几种类型的盐生植物总结于图 2-4。

（2）盐生植物的种类及分布

尽管 Aronson（1989）出版了《世界盐生植物名录》，其中记录了 117 科，550 属，1 560 余种盐生植物，但可以肯定地说，世界上的盐生植物种类远不止于此。Le Houerou（1993）认为 Aronson 报道的盐生植物种类比现有的要少得多，他估计全世界高等盐生植物约有 5 000～6 000 种，占世界被子植物的 2% 左右，分布于世界各地（表 2-3）。据我们调查，德国有 200 余种盐生植物，中国共有 66 科，199 属，400 多种盐生植物（表 2-4）。虽然没有进行全面统计，通过与 Aronson 的盐生植物名录对照，大约有 300 余种中国的盐生植物没有被记录其中。因此，从中国的盐生植物

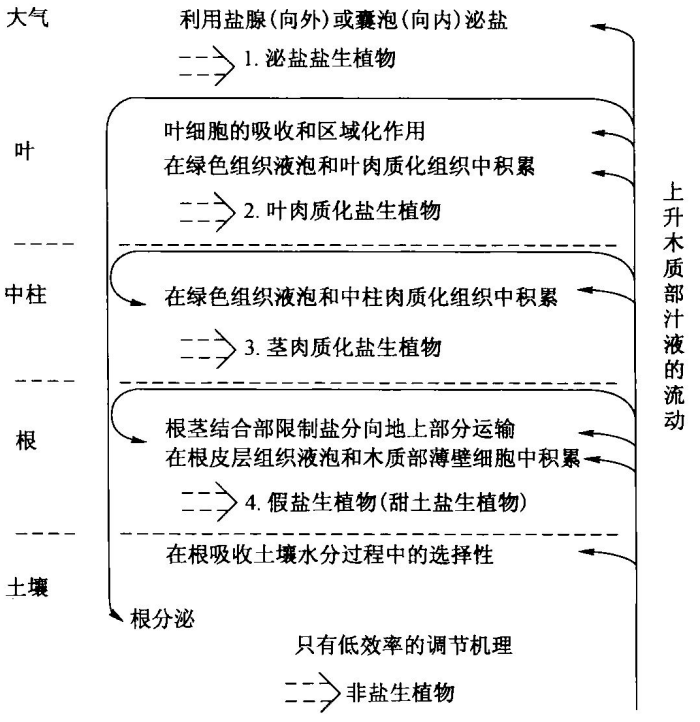


图 2-4　根据盐的摄取、盐的贮存和分泌分类的一些盐生植物类型

(改自 Breckle,1995)

种类就可证明,Aronson 的记录是不完全的。黄河三角洲是我国三大三角洲之一,主要包括山东省东营市和滨州市。黄河三角洲曾经是世界上土地面积增长最快的湿地,黄河河道平均每年向渤海延伸 2.2 km,平均年造陆地面积 600 ~ 1 300 hm^2(约 10 000 ~ 20 000 亩),然而一向被称为中国国土面积"增长点"黄河三角洲土壤盐碱化严重,这里生长着许多盐生植物。据我们初步调查,黄河三角洲地区共有盐生植物 29 科 62 属 89 种(表 2-5)。

很遗憾,由于盐碱地生态环境本身很脆弱,加上越来越多的人为干扰和生态环境的恶化,盐生植物种类逐年减少,有许多种类已灭绝。

表 2-3　世界盐生植物在不同科属中分布(引自 Flowers,1986)

科　名	盐生植物属数	该科中的属数	盐生植物属数占该科总属数的百分比/%
禾本科 Poaceae	45	650	7
藜科 Chenopodiaceae	44	100	44
菊科 Asteraceae	34	1 100	3
番杏科 Aizoaceae	21	143	15
蝶形花科 Papilionaceae	19	700	3
伞形科 Apiaceae	19	300	6
大戟科 Euphorbiaceae	15	300	5
十字花科 Brassicaceae	15	380	4

续表

科　名	盐生植物属数	该科中的属数	盐生植物属数占该科总属数的百分比/%
莎草科 Cyperaceae	13	90	14
棕榈科 Arecaceae	13	212	66
玄参科 Scrophulariaceae	13	220	6
石竹科 Caryophyllaceae	9	80	11

表 2-4　中国盐生植物科、属、种数(引自赵可夫和冯立田并修改,2001)

科名	属名	种数	科名	属名	种数
爵床科 Acanthaceae	*Acanthus*	2		*Trichurus*	1
番杏科 Aizoaceae	*Sesuvium*	1	萝藦科 Asclepiadaceae	*Cynanchum*	2
	Trianthema	1		*Gymnanthera*	1
夹竹桃科 Apocynaceae	*Apocyum*	1		*Tylophora*	1
	Cerbera	1	紫葳科 Bignoniaceae	*Dolichandrone*	1
	Poacynum	2	石竹科 Caryophyllaceae	*Spergularia*	1
桦木科 Betulaceae	*Betula*	1	藜科 Chenopodiaceae	*Anabasis*	3
紫草科 Boraginaceae	*Coldenia*	1		*Atriplex*	10
	Cynoglossum	1		*Bassia*	3
	Gastrocotyle	1		*Borszczowia*	1
	Heliotropium	2		*Chenopodium*	4
	Mertensia	1		*Corispermum*	3
	Meserschmidia	2		*Halochemum*	1
	Nonea	1		*Halopeplis*	1
	Rochelia	1		*Haloslachys*	1
使君子科 Combrelaceae	*Lunmitzera*	2		*Kalidium*	5
	Terminalia	1		*Kirilowia*	1
鸭跖草科 Commelinaceae	*Murdannia*	1		*Kochia*	3
菊科 Compositae	*Arlemisia*	7		*Petrosimonia*	2
	Brachyactis	1		*Salicornia*	1
	Chorisis	1		*Salsola*	16
	Cirsium	1		*Suaeda*	16
	Dendranthema	1		*Sympegma*	1
	Helichrysum	1	旋花科 Convolvulaceae	*Calystegia*	1
	Inula	1		*Lpomoea*	7
	Ixeris	1		*Sticlocardia*	1
	Karelinia	1	十字花科 Cruciferae	*Dilophia*	1
	Ligularia	2		*Lepidium*	4
	Mulgedium	1		*Pluchea*	2
	Paramicrorhychus	1		*Pyethrum*	1
卤蕨科 Acrostichaceae	*Acrostichum*	2		*Sasussurea*	9
苋科 Amaranthaceae	*Allmania*	1		*Scozonera*	3

续表

科名	属名	种数	科名	属名	种数
	Seriphidium	9	瓣鳞花科 Frankeninaceae	*Frankenia*	1
	Taraxacum	4	藤黄科 Guttiferae	*Calophyllum*	1
	Tripolium	1	水鳖科 Hydrocharitaceae	*Enhalus*	1
	Youngia	1	鸢尾科 Iridaceae	*Iris*	3
鳞毛蕨科 Dryopteridaceae	*Crytomium*	1	水麦冬科 Juncaginaceae	*Triglochin*	3
胡颓子科 Elaeagnaceae	*Elaeagnus*	1	玉蕊科 Lecythidaceae	*Barringtonia*	2
	Excoecaria	1	豆科 Leguminosae	*Alhagi*	1
草海桐科 Goodeniaceae	*Scaevola*	2		*Astragalus*	8
莲叶桐科 Hernandiaceae	*Hernandia*	1		Canavalia	2
	Halophila	3		Derris	1
	Thalassia	1		Desmodium	1
唇形科 Labiatae	*Ajuga*	1		Glycine	1
	Leucas	3		Glycyrrhiza	6
	Scutellaria	1		Gueldenstaedtia	1
百合科 Liliaceae	*Asparagus*	1		Halimodendron	1
马钱科 Loganiaceae	*Mitrasacme*	1		Indigofera	1
千屈菜科 Lythraceae	*Pemphis*	1		*Lathyrus*	1
锦葵科 Malvaceae	*Althaea*	2		*Melilotus*	2
	Hibiscus	1		*Oxytropis*	2
	Thespesia	2		*Pongamia*	1
楝科 Meliaceae	*Xylocarpus*	1		*Sesbania*	1
苦槛蓝科 Myoporaceae	*Myoporum*	1	列当科 Orobanchaceae	*Cistanche*	2
紫金牛科 Myrsinaceae	*Aegiceras*	1		*Orobanche*	1
茨藻科 Najadaceae	*Cymodocea*	1	棕榈科 Plamae	*Nypa*	1
	Zannichellia	2	露兜树科 Pandanaceae	*Pandanus*	1
铁青树科 Olacaeae	*Ximenia*	1	白花丹科 Plumbaginaceae	*Limonium*	11
柳叶菜科 Onagraceae	*Oenothera*	1		*Polygonum*	8
	Thellungiella	2	蓼科 Polygonaceae	*Rumex*	2
锁阳科 Cynomoriaceae	*Cynomorium*	1	眼子菜科 Potamogetonaceae	*Halodule*	2
莎草科 Cyperaceae	*Carex*	4		*Phyllospadix*	2
	Cyperus	1		*Posidonia*	1
	Fimbristylis	4		*Ruppia*	1
	Juncellus	1		*Syringodium*	1
	Mariscus	1		*Zostera*	6
	Remirea	1	报春花科 Primulaceae	*Glaux*	1
	Scirpus	4		*Lysimachia*	1
大戟科 Euphorbiaceae	*Euphorbia*	2		*Lysimachia*	1

续表

科名	属名	种数	科名	属名	种数
毛茛科 Ranunculaceae	*Halerpestes*	5		*Paspalum*	1
帚灯草科 Restionaceae	*Leptocarpus*	1		*Phacelurus*	3
红树科 Rhizzophoraceae	*Bruguiera*	4		*Phragmites*	1
	Ceriops	4		*Puccinellia*	5
	Ceriops	1		*Sclerochloa*	1
	Kandelia	1		*Spartina*	3
	Rhizophora	3		*Spinifex*	1
蔷薇科 Rosaceae	*Potaninia*	1		*Sporobolus*	1
	Potentilla	2		*Thuara*	1
	Sibbaldia	1		*Zoysia*	3
芸香科 Rutaceae	*Haplophyllum*	1	茜草科 Rubiaceae	*Scyphiphora*	1
无患子科 Sapindaceae	*Allophylus*	1	杨柳科 Salicaceae	*Populus*	2
	Dodonaea	1	玄参科 Scrophulariaceae	*Castilleja*	1
苦木科 Simaroubaceae	*Suriana*	1		*Dodartia*	1
茄科 Solanaceae	*Lycium*	4		*Linaria*	1
海桑科 Sonneratiaceae	*Sonneratia*	3		*Odontites*	1
	Smithia	1	梧桐科 Sterculiaceae	*Heritiera*	1
	Sphaerophysa	1	伞形科 Umbelliferae	*Cnidium*	2
	Trifolum	1		*Glehnia*	1
车前科 Plantaginaceae	*Plantago*	4		*Peucedanum*	1
禾本科 Poaceae	*Achnatherum*	1		*Schumannia*	1
	Aeluropus	2		*Seseli*	1
	Cenchrus	1	蒺藜科 Zygophyllaceae	*Nitraria*	2
	Crypsis	2		*Peganum*	1
	Digitaria	3		*Zygophyllum*	5
	Hordeum	3	柽柳科 Tamaricaceae	*Reaumuria*	2
	Ischaemum	1		*Tamarix*	13
	Lepturus	1	马鞭草科 Verbenaceae	*Avicennia*	1
	Leymus	7		*Clerodendrum*	1
	Panicum	1		*Vitex*	1
	Parapholis	1			

表 2-5 黄河三角洲高等盐生植物分类表

被子植物门
双子叶植物纲
（一）鳞毛蕨科 Dryopteridaceae
1. 贯众属 *Cyrtomium* Presl.
1）全缘贯众 *Cyrtomium falcatum*（L. f.）Presl.
（二）蓼科 Polygonaceae
2. 蓼属 *Polygonum* L.
2）西伯利亚蓼 *Polygonum sibiricum* Laxm.

续表

（三）藜科 Chenopodiaceae

3. 盐角草属 *Saliconia* L.

3）盐角草 *Saliconia europaea* L.

4. 虫实属 *Corispermum* L.

4）软毛虫实 *Corispermum puberulum* Iljin.

5）细苞虫实 *Corispermum stenolepis* Kitag.

6）毛果绳虫实 *Corispermum declinatum* Steph. ex Stev. *var. tylocarpum*（Hance.）Tsien et C. G. Ma

5. 藜属 *Chenopodium* L.

7）灰绿藜 *Chenopodium glaucum* L.

8）东亚市藜 *Chenopodium urbicum* L. *ssp. sinicum* Kung et G. L. Chu.

6. 滨藜属 *Atriplex* L.

9）中亚滨藜 *Atriplex centralasiatica* Iljin.

10）滨藜 *Atriplex patens*（Litv.）Iljin.

7. 地肤属 *Kochia* Roth.

11）碱地肤 *Kochia* scoparia（L.）Schrad. *var. sieversiana*（Pall.）Ulber ex Asch.

8. 碱蓬属 *Suaeda* Forsk. ex Scop.

12）盐地碱蓬 *Suaeda salsa*（L.）Pall.

13）碱蓬 *Suaeda glauca*（Bge.）Bge.

9. 猪毛菜属 *Salsola* L.

14）无翅猪毛菜 *Salsola komarovii* Iljin.

15）刺沙蓬 *Salsola ruthenica* Iljin.

（四）石竹科 Caryophyllaceae

10. 拟漆姑属 *Spergularia*（Pets.）J. et C. Presl.

16）拟漆姑 *Spergularia salina* J. et C. Presl.

（五）毛茛科 Ranunculaceae

11. 碱毛茛属 *Halerpestes* Green

17）碱毛茛 *Halerpestes ruthenica*（Jacq.）Ovcz.

（六）十字花科 Cruciferae

12. 独行菜属 *Lepidium* L.

18）光果宽叶独行菜 *Lepidium latifolium* L. *var.* affine C. A. Mey.

13. 盐芥属 *Thellungiella* O. E. Schulz

19）盐芥 *Thellungiella salsuginea*（Pall.）O. E. Schulz.

（七）豆科 Leguminosae

14. 大豆属 *Glycine* L.

20）野大豆 *Glycine soja* Sieb. et Zucc.

15. 苦马豆属 *Sphaerophysa* DC.

21）苦马豆 *Sphaerophysa salsula*（Pall.）DC.

16. 甘草属 *Glycyrrhiza* L.

22）甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.

23）刺果甘草 *Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim.

17. 米口袋属 *Gueldenstaedtia* Fisch.

24）海滨米口袋 *Gueldenstaedtia maritima* Maxim.

19. 香豌豆属 *Lathyrus* L.

26）海边香豌豆 *Lathyrus maritimus*（L.）Bigel.

20. 田菁属 *Sesbania* Scop.

27）田菁 *Sesbania cannabina*（Retz.）Pers.

21. 草木樨属 *Melilotus* Mill.

28）细齿草木樨 *Melilotus dentata*（Waldsf. et Kitag.）Pers.

29）草木樨 *Melilotus suaveolens* Ledeb.

续表

（九）蒺藜科 Zygophyllaceae
22. 白刺属 *Nitraria* L.
30）白刺 *Nitraria tangutorum* Bobr.
（十）鼠李科 Rhamnaceae
23. 枣属 Ziziphus Mill.
31）冬枣 *Ziziphus jujuba* Mill.
（十一）锦葵科 Malvaceae
24. 蜀葵属 *Althaea* L.
32）蜀葵 *Althaea rosea*（L.）Cavan.
（十二）柽柳科 Tamaricaceae
25. 柽柳属 *Tamarix* L.
33）柽柳 *Tamarix chinensis* Lour.
34）多枝柽柳 *Tamarix ramosissima* Ledeb.
（十三）胡颓子科 Elaeagnaceae
26. 胡颓子属 *Elaeagnus* L.
35）沙枣 *Elaeagnus angustifolia* L.
（十四）伞形科 Umbelliferae
27. 蛇床属 *Cnidium* Cuss.
36）滨蛇床 *Cnidium japonicum* Miq
28. 前胡属 *Peucedanum* L.
37）滨海前胡 *Peucedanum japonicum* Thunb.
（十五）报春花科 Primulaceae
29. 海乳草属 *Glaux* L.
38）海乳草 *Glaux maritima* L.
30. 珍珠菜属 *Lysimachia* L.
39）海滨珍珠菜 *Lysimachia mauritiana* Lam.
（十六）白花丹科 Plumbaginaceae
31. 补血草属 *Limonium* Mill.
40）二色补血草 *Limonium bicolor*（Bge.）Kuntz.
41）补血草 *Limonium sinense*（Girard）Kuntz.
42）烟台补血草 *Limonium franchetii*（Debx.）Kuntz.
43）黄花补血草 *Limonium aureum*（L.）Hill.
（十七）夹竹桃科 Apocynaceae
32. 罗布麻属 *Apocynum* L.
44）罗布麻 *Apocynum venetum* L.
（十八）萝藦科 Asclepiadaceae
33. 鹅绒藤属 *Cynanchum* L.
45）鹅绒藤 *Cynanchum chinense* R. Br.
（十九）旋花科 Convolvulaceae
34. 打碗花属 *Calystegia* R. Br.
46）肾叶打碗花 *Calystegia soldanella*（L.）R. Br.
（二十）紫草科 Boraginaceae
35. 砂引草属 *Messerschmidia* L.
47）砂引草 *Messerschmidia sibirica* L.
（二十一）马鞭草科 Verbenaceae
36. 牡荆属 *Vitex* L.
48）单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham.
（二十二）唇形科 Labiatae
37. 黄芩属 *Scutellaria* L.

续表

49）沙滩黄芩 *Scutellaria strigillosa* Hemsl.

（二十三）茄科 Solanaceae

38. 枸杞属 *Lycium* L.

50）枸杞 *Lycium chinense* Mill.

51）宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L.

（二十四）玄参科 Scrophulariaceae

39. 疗齿草属 *Odontites* Ludwig

52）疗齿草 *Odontites serotina*（Lam.）Dum.

（二十五）菊科 Compositae

40. 碱菀属 *Tripolium* Nees.

53）碱菀 *Tripolium vulgare* Nees.

41. 菊属 *Dendranthema*（DC.）Des Moul.

54）野菊 *Dendranthema indicum*（L.）Des Moul.

42. 蒲公英属 *Taraxacum* L.

55）蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz.

43. 乳苣属 *Mulgedium* Cass.

56）乳苣 *Mulgedium tataricum*（L.）DC.

44. 沙芙菜属 *Chorisis* DC.

57）沙苦芙菜 *Chorisis repens*（L.）DC.

45. 蒿属 *Artemisia* L.

58）茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb.

单子叶植物纲

（二十六）眼子菜科 Potamogetonaceae

46. 川蔓藻属 *Ruppia* L.

59）川蔓藻 *Ruppia maritima* L.

47. 大叶藻属 *Zostera* L.

60）大叶藻 *Zostera marina* L.

61）丛生大叶藻 *Zostera caespitosa* Miki.

62）矮大叶藻 *Zostera japonica* Aschers. et Graebn.

48. 虾海藻属 *Phyllospadix* Hook.

63）红纤维虾海藻 *Phyllospadix iwatensis* Makino.

64）黑纤维虾海藻 *Phyllospadix japonica* Makino.

（二十七）茨藻科 Najadaceae

49. 角果藻属 *Zannichellia* L.

65）角果藻 *Zannichellia palustris* L.

变种：柄果角果藻 *Zannichellia palustris* L. var. *pedicellata* Wahlenb et Rosen.

（二十八）水麦冬科 Juncaginaceae

50. 水麦冬属 *Triglochin* L.

66）海韭菜 *Triglochin maritimum* L.

67）水麦冬 *Triglochin palustre* L.

（二十九）禾本科 Poaceae

51. 芦苇属 *Phragmites* Trin.

68）芦苇 *Phragmites australis*（Cav.）Trin. ex Steud.

52. 碱茅属 *Puccinellia* Parl.

69）大药碱茅 *Puccinellia macranthera* Krecz.

70）星星草 *Puccinellia tenuiflora*（Griseb.）Scribn. et Merr.

71）鹤甫碱茅 *Puccinellia hauptiana*（Trin.）Krecz.

72）碱茅 *Puccinellia distans*（Jacq.）Parl.

73）微药碱茅 *Puccinellia micrandra*（Keng）Keng

续表

53. 赖草属 *Leymus* Hochst.
74）滨麦 *Leymus mollis*(Trin.)Hara.
75）赖草 *Leymus secalinus*(Georgi)Tzvel.
54. 獐毛属 *Aeluropus* Trin.
76）獐毛 *Aeluropus sinensis*(Debeaux)Tzvel.
55. 结缕草属 *Zoysia* Willd.
77）大穗结缕草 *Zoysia macrostachya* Franch. et Sav.
78）结缕草 *Zoysia japonica* Steud.
56. 大米草属 *Spartina* Schreb. *ex* J. E. Gmel.
79）大米草 *Spartina anglica* C. E. Hubb.
57. 硬草属 *Sclerochloa* Beauv.
80）硬草 *Sclerochloa kengiana*(Ohwi)Tzvel.
58. 鸭嘴草属 *Ischaemum* L.
81）毛鸭嘴草 *Ischaemum antephoroides*(Steud.)Miq.
59. 束尾草属 *Phacelurus* Griseb.
82）束尾草 *Phacelurus latifolius*(Steud.)Ohwi
（变种）狭叶束尾草 *Phacelurus latifolius*(Steud.)Ohwi var. *angustifolius*(Debeaux)Kitagawa
60. 白茅属 *Imperata* Cyr.
83）白茅 *Imperata cylindruca*(L.)Beauv.

（三十）莎草科 Cyperaceae
61. 藨草科 *Scirpus* L.
84）扁杆藨草 *Scirpus planiculmis* Fr. Schmidt.
62. 飘拂草属 *Fimbristylis* Vahl.
85）锈鳞飘拂草 *Fimbristylis ferrugineae*(L.)Vahl.
63. 薹草属 *Carex* L.
86）筛草 *Carex kobomugi* Ohwi.
87）矮生薹草 *Carex pumila* Thunb.
88）糙叶薹草 *Carex scabrifolia* Steud.

（三十一）鸢尾科 Iridaceae
64. 鸢尾属 *Iris* L.
89）马蔺 *Iris lactea* Pall. var. *chinensis*(Fisch.)Koidz.

2.3.3 盐生植物在植物抗盐机理研究中的作用

盐生植物能够在盐渍土壤上正常生长发育并完成其生活史，因此，人们认为这类植物必然具有独特的抗盐机理。特别是某些真盐生植物，在非盐碱地上生长不良，有的只开花不结实，有的甚至不能开花结实。因此，长期以来许多科学家把盐生植物作为研究植物耐盐机理的模式材料。由盐生植物的类型可以看出，盐生植物耐盐的生理基础是不同的，但有一点是相同的，即维持细胞质低 Na^+，或更确切地说维持细胞质及除液泡外细胞器的低 Na^+/K^+ 比是盐生植物抗盐的关键。盐生植物可以通过拒盐、泌盐和稀盐方式达到这一目的。稀盐，即把 Na^+ 区域化到液泡中的耐盐方式与非盐生植物相似，不涉及盐腺等特殊结构的发育。因此，关于 Na^+ 区域化及外排分子机理研究已成为植物耐盐分子机理热点领域。利用盐生植物作为模式材料主要有稀盐盐生植物盐地碱蓬（*Suaeda salsa*）、红树科（Rhizophoraceae）植物、可诱导 CAM 植物冰叶日中花（*Mesembryanthemum crystallinum*）、泌盐盐生植物二色补血草（*Limoniaon bicolor*）和十字花科植物盐芥（*Thellungiella halophila*），耐盐植物主要有大麦、甜菜和高粱等。

2.3.4 盐生植物的开发利用及保护

我国盐生植物资源十分丰富，盐生植物资源与人类关系十分密切，是重要的抗盐基因资源。那么，我们如何合理开发和利用这些盐生植物，合理保护和发展这些盐生植物，使我们能够可持续地利用这些盐生植物，使它们能够持续地为生态平衡和我们人类服务，是摆在我们面前的一个极为重要的课题。

(1) 盐生植物资源的合理利用

盐生植物资源的合理利用，就是达到经济效益、生态效益和社会效益的和谐和统一，要实现这一目标，就需要做好以下几个方面的工作。

加强综合利用　许多盐生植物具有重要经济价值，所以，盐生植物的开发利用从来没有停止过。以往在对植物资源利用上，往往采取单一的生产经营方式，产生大量的“余料”，不仅造成资源的极大浪费，而且“余料”成为难以处理的废物，造成环境污染，例如，黄河三角洲芦苇作为造纸原料等造成大量废物和废水。要解决这些问题，必须发展相关产业，形成产业链，从而实现资源的综合利用。

深细加工　山区和边远地区提供给市场的植物产品常常是原料或初级产品，这种产品附加值低，经济效益差，而且粗、笨和简陋，这样造成运输量大、运销成本高，这是山区和边远地区盐生植物资源优势难以转化为经济优势的致命弱点。在盐生植物资源的开发利用中，随着资源初级产品→初加工产品→精加工产品的转化，产品的价格成倍甚至几十倍的增加，而且所消耗的资源量大幅度下降，有利于减轻资源所承受的压力，提高产品的加工深度，改变产品初级化、原料化、档次低的产品，是植物资源开发利用的必由之路。例如，新疆的柽柳，作为原料编成出口的篓和筐，消耗大量资源，附加值很低。如果开发其中天然活性成分，制成药物等就可以大大提高其附加值。资源丰富的山区和边远地区往往由于缺乏资金和技术，这一难题无法解决，可以将自身的资源优势和劳动力优势与发达地区的经济、科技优势结合起来，互惠互利。另外，政府部门要在政策上扶持现有企业深加工的项目，使资源合理利用，多次增值。

持续利用　由于野生盐生植物自然减少和人为的乱采滥挖，造成了盐生植物资源急剧下降。例如西北地区的甘草，由于市场看好，群众群起乱挖，不长时间即造成甘草资源匮乏，市场甘草短缺。为了避免这种愚蠢行为，有必要将盐生植物资源交由地方政府管理，或由集体或个人承包，实行政府指导下的有序利用。在利用野生盐生植物资源中，一定要做到：①根据盐生植物资源的贮量及生长年限有计划地发展利用，既不要因为一时市场好销而过度采集，也不要因为一时市场不畅而毁掉资源；②要轮采轮挖，给盐生植物以休养生息的机会；③采大留小，采集数量不能大于生产量，达到能够持续地采集下去；④适当人为补种，以补偿种群密度；⑤如果利用盐生植物作为饲料发展畜牧业，要根据盐生植物生长发育情况，给盐生植物以休养生息的机会，避免过度放牧。

充分发挥植物资源的生态效益　在开发利用盐生植物资源方面，生产的植物产品及同时生产的废料，一定不能污染环境，保持优良的生态环境，实现可持续利用和发展。另外，在采集挖掘植物材料时，要注意不要采集水土保持区域的资源植物，因为它们在防止水土流失方面，发挥着极其重要的生态效益。即使有经济价值的盐生植物也不要集中采挖，避免该物种突然减少造成生态退化。而是利用组织培养、悬浮培养、细胞工程等生物技术开发利用这些经济价值

的盐生植物。

变野生为人工栽培种植，建立商品基地　野生盐生植物往往分布零散、产量低、质量差，如能人工就地种植，实行人工筛选、培育和栽培，则既能批量生产，又能保证质量，投资少而效果大。另一方面，可以根据研究配套栽培技术，实现产量和品质的最大化。

引种、驯化世界各地的盐生植物，为我所用　世界盐生植物资源十分丰富，大部分没有被研究过，所以新的盐生植物资源会不断地被发掘出来。另外，随着科学的进一步发展，原来看似没有用的植物成分，通过不断研究，会发现它们的新用途。我们可以根据我国盐碱地地区的地理、气候和盐碱地土壤特点引种与之相似而当地没有的盐生植物，从而加以开发利用。

建立工厂化基地，开发利用稀有或濒危经济盐生植物　对有经济价值的稀有或濒危经济盐生植物要利用组织培养进行快繁，实行工厂化育苗，也可以进行细胞悬浮培养、工厂化加工、提取和纯化其功能成分。

培育新的盐生植物　利用常规育种、基因工程和细胞工程等手段培育新的有经济效益和社会效益的盐生植物，用于盐碱地的开发利用。目前，由于绝大多数盐生植物的遗传转化体系没有建立，所以利用基因工程培育新的有经济效益和社会效益的盐生植物存在很大困难，而利用细胞工程在技术上也有很多问题。因此，目前盐生植物育种仍然以自然筛选、辐射加压筛选、杂交育种等常规育种为最有效方法。

(2) 盐生植物资源的保护

盐生植物是十分珍贵的自然资源，其中有些可以食用，有的可以作为药材，有的可以作为蔬菜，有的可以作为饲料，有的可以作为木材，有的可以作为绿化物种，有的可以作为能源植物，还有的可以作为重要化工原料(造纸)等(赵可夫和冯立田，2001)。特别是生长在海岸和滩涂地区盐生植物，如大米草和红树林对防潮固滩有十分重要的意义。其次，在理论研究方面，盐生植物耐盐机理及耐盐关键基因分离、克隆及转基因耐盐作物新品种培育方面都有着特殊意义。盐生植物的生存环境特别恶劣，所以盐碱地的生态系统本身就非常脆弱，而人类活动及环境日益恶化，使得许多盐生植物种类濒临灭绝，因此，盐生植物资源保护，建立国家级盐生植物资源库就成为了当务之急。

2.4　盐生植物耐盐的形态学基础

盐生植物长期生活在高盐环境中，通过拒盐、排盐和稀盐三种途径来达到避免盐害的目的：①**拒盐**(salt exclusion)，某些植物的根及根茎结合部对盐离子的透性很小或阻止盐离子向地上部分运输，因此，在一定浓度的盐分范围内，根很少吸收盐分，或者根系吸收的盐分主要积累在根、根茎结合部和叶鞘中，使叶片 Na^+ 等盐离子显著低于根中。如芦苇等拒盐只发生在局部组织，如根吸收的盐类只积累在根细胞或叶鞘细胞的液泡内，不向地上部分运转，地上部分“拒绝”吸收盐分；②**泌盐**(salt excretion)，也称排盐，指植物将吸收的盐分通过盐腺(salt glands)或盐囊泡(salt bladders)把盐主动分泌到茎叶的表面，尔后被雨水冲刷脱落，防止过多盐分在体内的积累，如二色补血草通过多细胞盐腺泌盐，而滨藜则通过盐囊泡排盐。此外有些植物将吸收的盐分转移至老叶中积累，最后叶片脱落，以此来阻止盐分在体内的过量积累，如棉花等；③**稀盐**(salt dilution)，某些盐生植物将吸收到体内的盐分，通过两种稀释方式使盐分不致发生毒害：一是通过

快速生长，细胞大量吸水或增加肉质化程度使组织含水量提高；二是通过细胞的区域化作用将盐分集中于液泡，使水势下降，保证吸水。这两种稀释方式往往是密切联系的，如盐地碱蓬在盐碱地上通过把盐离子区域化到液泡中，一方面降低盐离子对细胞质代谢的毒害，另一方面降低细胞渗透势，使细胞继续吸水并发生肉质化。这类盐生植物叶片及幼茎中往往积累大量盐分，所以，这类盐生植物也称为**积盐型盐生植物**(salt accumulator)。

三种类型的盐生植物长期生活在高盐环境中，都已经形成了相应的形态学结构以适应拒盐、排盐和稀盐的机制，只不过有的非常明显，如盐腺和盐囊泡，有的较明显，如叶片的肉质化，有的则不明显，如根部拒盐。

2.4.1 拒盐的形态学基础

所谓假盐生植物，即 Levitt 等所说的拒盐植物，是一类其根部细胞膜和其他组织对盐离子具有很强的选择性，就是拒绝或较少吸收 Na^+ 和 Cl^-，并可以将 Na^+、Cl^- 积累在根部和茎基部(如叶鞘薄壁细胞和维管束木质部薄壁细胞)的植物。将 NaCl 积累在根部或茎基部的意思是，即使外界 NaCl 进入植物体，植物将 NaCl 贮存在根部或茎基部，而不向地上部分运输，从而使地上部分(叶片、生长点及生殖器官)免受盐害。因此，拒盐植物的显著特点就是，在一定盐环境中叶片等地上器官 Na^+ 和 Cl^- 含量远远低于根中 Na^+ 和 Cl^- 含量。

大部分单子叶植物都表现出拒盐特性，在禾本科植物之中尤其突出，如芦苇就是一种典型的拒盐植物。Matsushita(1991)报道，芦苇生长在不同盐度下，其地上部分和根部的 Na^+ 含量均随外界盐度升高而升高，但根部含盐量的增加数量远高于地上部分，在 50 mmol/L NaCl 条件下，根部 Na^+ 含量为地上部分含量的 3.38 倍，水稻虽然也拒盐，但是比芦苇差很多(图 2-5)。这也是为什么芦苇可以生长在滩涂盐碱地而水稻则不能的原因之一。

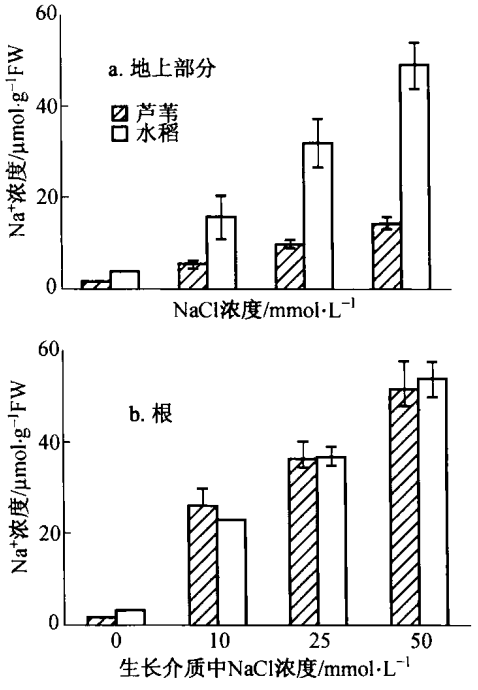


图 2-5 不同盐度下芦苇、水稻根部(b)和地上部分(a)Na^+ 含量

(引自 Matsushita 和 Matoh，1991)

很遗憾，关于拒盐植物根和茎部拒盐的形态学机制目前尚不清楚。

过去，人们一直认为根的内皮层，特别是凯氏带可能在拒盐过程中起重要作用。但是，越来越多事实否定了这一推论。

近来利用冷冻分析扫描电子显微镜进行不同耐盐小麦根从表皮、皮层、内皮层、中柱鞘和木质部薄壁细胞中 Na^+、Cl^- 和 K^+ 进行定量分析发现，内皮层不是拒盐关键部位，而中柱鞘和木质部薄壁细胞在拒盐过程中起重要作用(Lauchli 等，2008)。

通过植物解剖学和植物生理学的研究，发现植物根系吸收 Na^+、Cl^- 后，在向上运输的过程中，大部分 Na^+ 积累在根部或茎基部，所以根部和茎基部中 Na^+ 含量特别高，同时发现，在 Na^+ 含量增大的同时，茎基部或根部的 K^+ 含量也随之降低，

因而推论,木质薄壁细胞从木质导管中吸收 Na^+,是通过木质部薄壁细胞中 K^+ 与木质部导管中 Na^+ 进行离子交换来完成的。木质部薄壁细胞有没有这种能力进行离子交换,成为大家的讨论中心。Kramer 等(1978)很快发现这类植物的木质部薄壁细胞在盐渍条件下,可以分化成传递细胞(transfer cells),传递细胞具有较大的质膜表面积,可以高速进行离子交换,从而解决了这个疑问。后来,Winter(1980)利用放射性 $^{22}Na^+$ 和 Cl^- 研究了三叶草(*Trifolium alexahdrinum*),他将 $^{22}Na^+$ 和 Cl^- 施到用盐处理的三叶草叶片上,$^{22}Na^+$ 和 Cl^- 很快被运输到其茎基部和根部,因此而提出离子从叶片被重新吸收运到根部和茎部,是通过木质部向韧皮部传递的假说,即通过木质部传递细胞运到韧皮部传递细胞,进入韧皮部筛管,然后通过筛管将离子运输到茎基部或根部。

根据以上实验事实,Lauchli(1984)提出了**脉内再循环**(intraveinal recycling)假说,而后被逐步地完善(图 2-6,另见彩插)(Tester 等,2003)。同样的道理,在 NaCl 处理条件下,拒盐植物根吸收的 Na^+ 通过木质部导管运到地上部分或根茎部,再通过木质部传递细胞运到韧皮部传递细胞,进入韧皮部筛管,然后通过筛管将离子运输到茎基部或根部,最后通过根细胞质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白分泌到根外,形成一个循环。但传递细胞是否被盐胁迫专一性诱导,这些传递细胞在拒盐作用中的详细作用,脉内再循环在排盐过程中所占份额及普遍性等均有待深入研究。

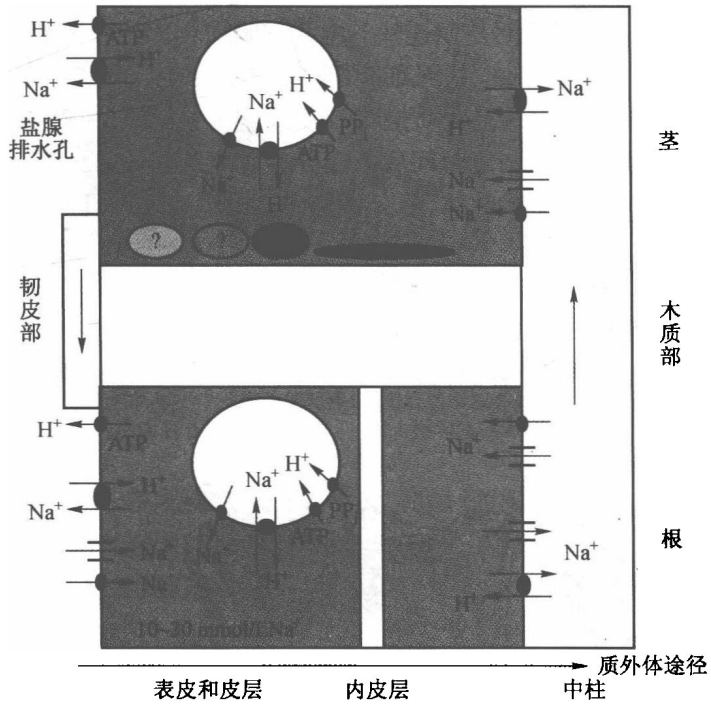


图 2-6 Na^+ 在非盐生植物脉内再循环的模型

红箭头表示 Na^+ 进入植物体内并通过木质部向地上部分运输或运出液泡,降低这一过程可以提高植物耐盐性。绿箭头表示 Na^+ 从木质部卸载、区域化到液泡中、从地上部分通过韧皮部运回根部运输及运出细胞,增加这一过程可以提高植物耐盐性。叶绿体:绿色;线粒体:橙色;过氧化物体:红色;内质网:深蓝色;液泡:无色。细胞器中问号表示 Na^+ 进出该细胞器机制不清楚。(引自 Tester 和 Davenport,2003)

近年来分子生物学证据表明,木质部薄壁细胞质膜上的 HKT1 具有从木质部导管中 Na^+ 卸载 Na^+,并通过韧皮部运回根部的作用(Ren 等,2005;Davenport 等,2007)。

2.4.2 泌盐的形态学基础

泌盐盐生植物最显著的形态结构特征是具有泌盐结构,可将体内过多的盐分排出体外。这种结构包括盐腺和盐囊泡两类。泌盐盐生植物的盐腺和盐囊泡是唯一与非盐生植物可以区别的典型结构,这种结构主要分布在植物的茎、叶表面等地上部分器官,主要功能是把植物体内过多盐分分泌到体外或储存在盐囊泡中。因此,盐腺和盐囊泡在调节泌盐盐生植物体内的离子平衡、维持渗透压稳定及提高植物的耐盐性等方面发挥重要作用。

(1) 盐囊泡

盐囊泡(salt bladder)具有泌盐功能发现于 1959 年,在此之前,它被认为是贮藏水分的器官。盐囊泡分布于藜科(Chenopodiaceae)的一些属中,如滨藜属(*Atriplex*)的所有种类、藜属(*Chenopodium*)的多数种类以及猪毛菜属(*Salsola*)的部分种类。

盐囊泡的结构　盐囊泡的结构相对简单,一般情况下,盐囊泡有 1 个柄(1 ~ 4 个柄细胞)和 1 个膨大的泡状细胞,其直径 80 ~ 200 μm,但形状在不同植物、甚至相同植物不同器官也不尽相同。如滨藜叶片气球状囊泡细胞(图 2 - 7a),冰叶日中花的盐囊泡不具柄;柄细胞的结构与盐腺的各种细胞相似,细胞质浓稠,有较多的线粒体、内质网和许多小液泡,与盐腺不同的是,盐囊泡柄细胞含有叶绿体。柄细胞通过大量胞间连丝与泡状细胞和相邻的叶肉细胞相连(图 2 - 7b),成熟的泡状细胞有一个很大的中央液泡,边缘细胞质中含有线粒体、小液泡高尔基体和叶绿体(图 2 - 7c)。盐囊泡有一层很厚的、多层的角质层与表皮细胞连接(图 2 - 7b)。冰叶日中花的盐囊泡结构(图 2 - 8a),NaCl 溶液处理一定时间后一部分盐囊泡发育成的腺毛(图 2 - 8b),用尖端小于 0.5 μm 玻璃吸管吸取盐囊泡中的液体,经分析表明盐处理后冰叶日中花的盐囊泡中的 Na^+ 浓度超过 1 mol/L(图 2 - 8c)。

盐囊泡的发育　盐囊泡是由某些表皮细胞发育而来。盐囊泡在叶子发育的很早阶段就开始形成,其发育过程如图 2 - 9 所示。在滨藜属中有两种类型的盐囊泡发育,一种在叶的整个发育过程中都有某些表皮细胞发育成盐囊泡,如 *Atriplex centersifolia*,另一种表皮细胞则只在幼叶发育阶段形成盐囊泡,如 *Atriplex hortensis*。

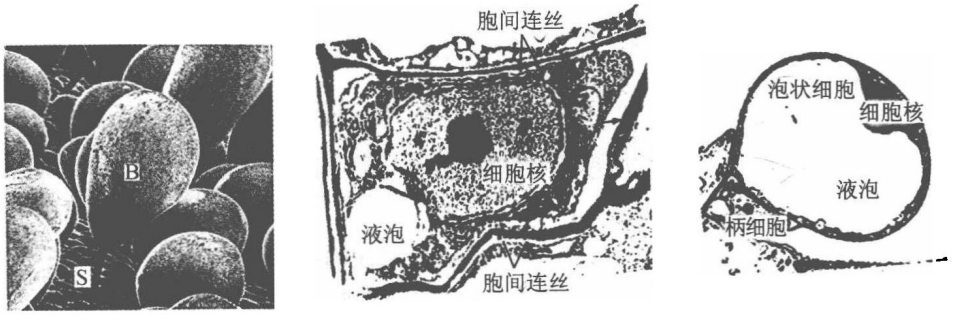


图 2 - 7　滨藜(*Atriplex spongiosa*)盐囊泡(a)、盐囊泡柄细胞(b)和盐囊泡结构(c)

B. 气球状囊泡细胞;S. 柄细胞。(引自赵可夫和李法曾,1999)

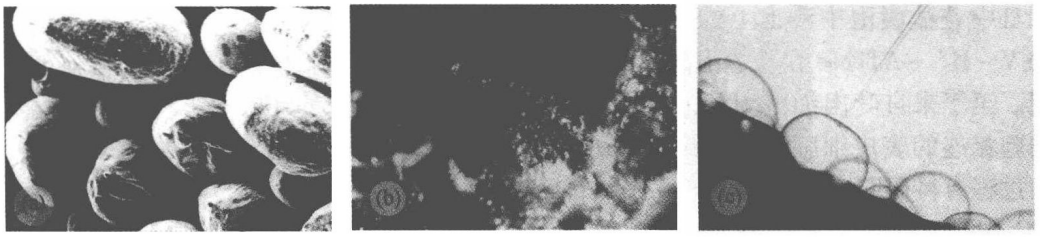


图 2-8 冰叶日中花(*Mesembryanthemum crystallinum*)盐囊泡结构

(a)NaCl 溶液处理后叶片表面扫描电镜显示的盐囊泡;(b)NaCl 处理后叶片尖端和萼片的一部分盐囊泡发育成的腺毛结构;(c)盐囊泡(位于茎叶其他部位的再怎么处理也不变)。(引自 Adams 等,1998)

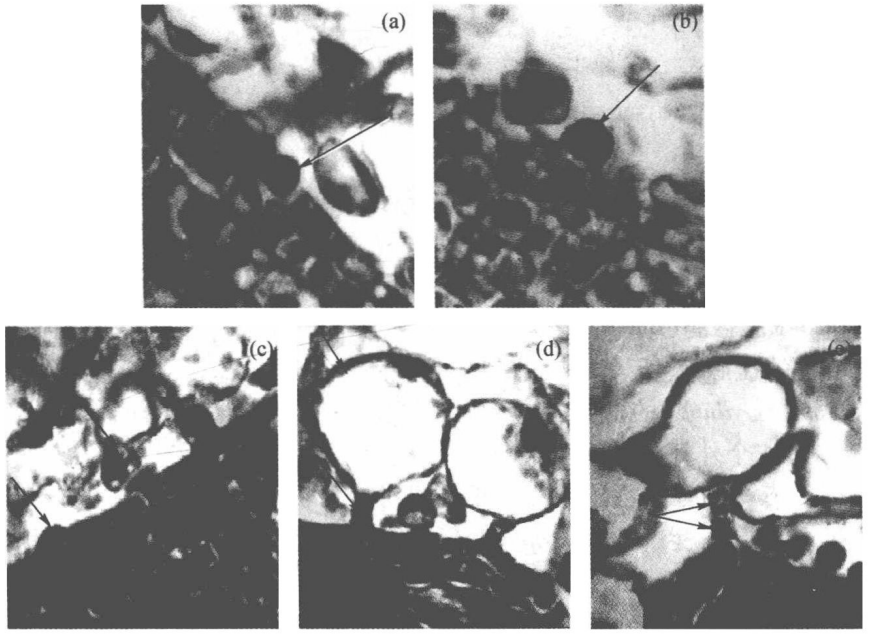


图 2-9 中亚滨藜(*Atriplex centralasiatica*)叶片囊泡的发育过程

(a)细胞质浓厚的表皮细胞;(b)增大的原始细胞;(c)盐囊泡原始细胞及其经第一次分裂后形成的两个子细胞;(d)具有一个柄细胞的盐囊泡,示泡状细胞和柄细胞;(e)具有两个柄细胞的盐囊泡,具分生能力的柄细胞分裂成两个细胞。(引自杨美娟,2005)

叶表皮中盐囊泡的大小、密度变化与土壤盐度、光强、通气性有关,表皮中盐囊泡的密度从叶尖到叶基是逐渐降低的,同时近轴叶表面比远轴叶表面的密度低。单位叶面积盐囊泡的数量随着叶的成熟而下降。盐度的提高导致盐囊泡密度的降低以及泡状细胞直径的增加。减少光强及气体的缺乏通常导致盐囊泡密度的降低。即使盐囊泡已发育完全提高盐浓度仍可以使盐囊泡明显增大,其密度除了受数目还受叶面积影响,如环境因子明显影响叶面积对密度可造成很大影响。

盐囊泡的泌盐机制 Storey 等(1983)利用 X 线微量分析法对生长在 NaCl 处理下的滨藜(*Atriplex spongiosa*)叶片的不同部位的细胞及细胞的不同部位的 Na^+、K^+、Cl^- 等离子进行定位分析,认为叶细胞的细胞质倾向于选择 K^+ 而排斥 Na^+。Na^+、Cl^- 离子经过一系列耦联的离子运输并区域化最终进入盐囊泡的大液泡中(图 2-10)。离子进入囊泡后,即暂时贮存在囊泡里,如果遇到破坏因子,如大风、暴雨或触碰,盐囊泡破裂或脱落将盐离子释放出来。Barkla 等(2002)发

现冰叶日中花盐囊泡中液泡上的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白和 $V-H^+-ATPase$ 在盐囊泡的盐分积累中起重要作用。至于来自叶肉细胞间隙的离子等如何通过与柄细胞相连的表皮细胞进入柄细胞及泡状细胞等的详细过程有待研究。

(2) 盐腺

早在 19 世纪后期,人们就在白花丹科(Plumbaginaceae)和柽柳科(Tamaricaceae)植物中发现了**盐腺**(salt gland),从那时起对盐腺的结构、功能和泌盐机制及其生物学意义展开了广泛的研究。盐腺分布于双子叶植物 11 科 17 个属以及单子叶植物禾本科(Poaceae)某些种的地上部分,而 Chloroideae 亚科植物的盐腺具有很弱的分泌功能或无分泌功能。

a. 盐腺的结构　盐腺的结构在不同植物中差异很大,但在同一个科中的植物是很相似的。根据结构的不同可将盐腺分为两种类型,即**多细胞盐腺**(multicellular gland)和**双细胞盐腺**(bicellular gland)。

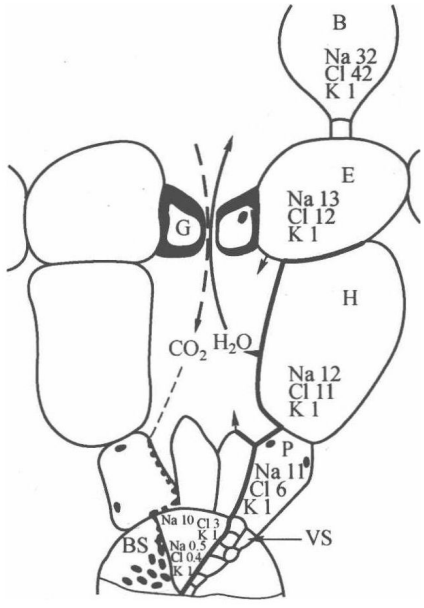


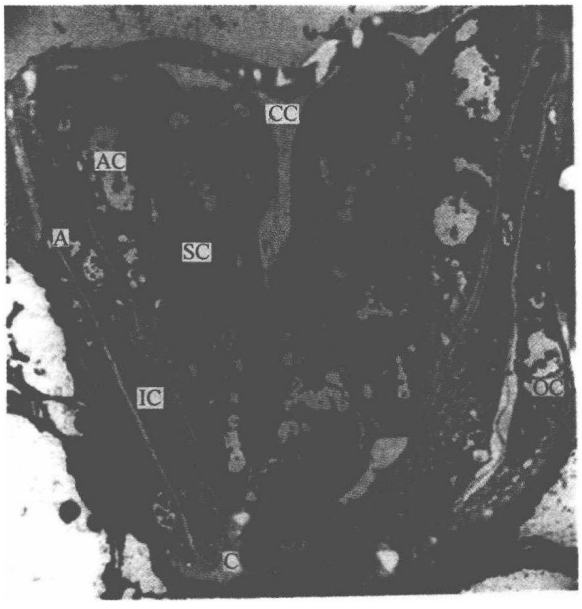
图 2-10　滨藜在 600 mmol · L^{-1} NaCl 条件下盐囊泡泌盐图解

BS. 维管束鞘细胞细胞质和液泡;VS. 维管系统;P. 栅栏细胞(液泡);H. 表皮下细胞(液泡);E. 表皮细胞(液泡);B. 泡状细胞(液泡);G. 保卫细胞。箭头表 CO_2 和 H_2O 的运动方向。(引自 Storey *et al*,1983)

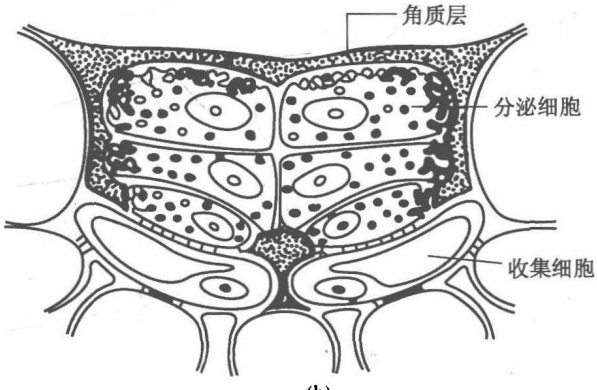
白花丹科植物的盐腺有 16 个细胞组成,如平叶矾松(*Limonium platyphyllum*)的盐腺有 4 个分泌细胞、4 个内杯状细胞、4 个外杯状细胞和 4 个毗邻细胞组成(图 2-11a)。而柽柳科植物的盐腺有排列成对的 8 个细胞组成,如无叶柽柳(*Tamarix aphylla*)的盐腺有 2 个液泡化的收集细胞和 6 个分泌细胞组成(图 2-11b)。

多细胞盐腺具有以下几个共同特点:①腺体均是由数目不等的收集细胞、分泌细胞、基细胞或柄细胞等多细胞共同组成;②腺体除最内部细胞和基层下部细胞之间的渗入区域一小部分外,几乎全部被有 1 层角质层。角质层通常沿着腺体外表面把分泌细胞的胞壁分开,一般在分泌细胞和角质层之间,形成一个大的收集室。在许多腺体中,沿着最内部腺体细胞或基部细胞侧壁之间没有细胞壁,出现一种独特的界面结构,在这个部位,角质层物质较之在角质层衬质中常观察的联合囊包层和小纤丝电子更致密。虽然不规则的原生质膜的小泡是一个共同的特征,但是原生质膜仍紧密地与角质层接触,特别是靠近基部细胞与附近分泌细胞连接的地方。在渗入区或靠近渗入区的收集细胞或基层下部细胞的细胞壁都没有角质化;③在分泌细胞与收集细胞之间,分泌细胞相互之间通过胞间连丝相互联系;④在多数植物盐腺分泌细胞的细胞壁出现许多胞壁突起,这种结构在柽柳属、补血草属特别明显,在单子叶植物獐毛属(*Aeluropus*)、大米草属(*Spartina*)等植物的盐腺中以及一些盐生植物的根、叶表皮尤其水生盐生植物表皮中也可看到。在海榄雌属及蜡烛果属植物的盐腺却没有发现这种结构;⑤腺体细胞的细胞质浓稠、细胞核大、有许多线粒体、无中央大液泡但有许多小液泡、无发育良好的叶绿体;⑥收集细胞在超微结构上和叶肉细胞非常相似,具有中央大液泡、发育良好的叶绿体、线粒体及其他细胞器。

禾本科不同种类之间盐腺的基本结构是相似的,但在形态和功能上存在很大差异。根据这



(a)



(b)

图 2-11 泌盐植物平叶矶松盐腺结构(a)和无叶柽柳盐腺结构(b)

CC. 收集室;SC. 分泌细胞;AC. 毗邻细胞;IC. 内杯状细胞;OC. 外杯状细胞。
(引自 Vassilyev 和 Stepanova,1999;赵可夫和李法曾,1999)

些差异可将禾本科植物的盐腺分为 3 类:第一类,盐腺下陷于表皮细胞层,基细胞较大、卵形,腺体具有很强的分泌功能,如大米草、獐毛等植物的盐腺(图2-12);第二类,盐腺突起于表皮细胞层,基细胞小且细长,帽细胞细长呈长刺状,腺体无分泌功能或只有很弱的分泌功能,如 *Bouteloua*、*Crypsis*、*Panicum* 等属植物的盐腺(图 2-13a,g);第三类,盐腺的形态、功能介于上述两者之间,盐腺在表皮细胞层中半下陷,基细胞较小,帽细胞呈泡状,腺体具有较弱的分泌功能,如 *Dactyloctenium*、*Dinebra*、*Tetrapogen*、*Paspalus* 等属植物的盐腺(图 2-13b,c,

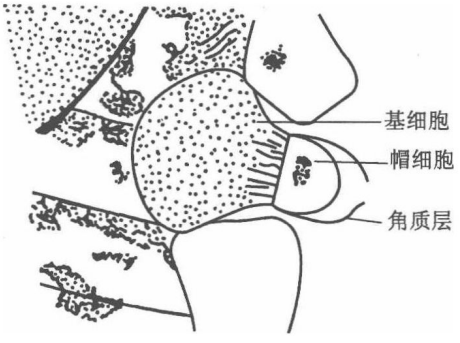


图 2-12 大米草盐腺(第一类)
(引自赵可夫和李法曾,1999)

d,e,f)。基细胞的形态与泌盐效率间具有高度的相关性,基细胞的直径大且腺体下陷则其分泌效率高,基细胞长且腺体突出叶表皮则其分泌效率低。

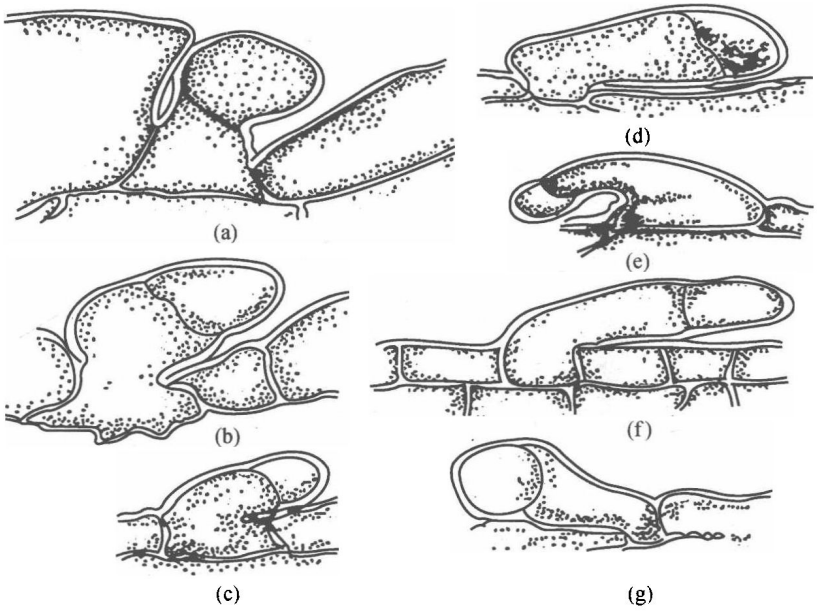


图 2-13 几种禾本科植物的盐腺结构

(a),(g). 第二类;(b),(c),(d),(e),(f). 第三类。(引自赵可夫和李法曾,1999)

大米草具有典型的禾本科植物盐腺,其盐腺由一个较大的基细胞和一个小的圆顶状的帽细胞组成。帽细胞位于基细胞颈状突起的上部,两者均具有浓稠的细胞质、大的细胞核、多数线粒体、一些小的液泡、游离核糖体、内质网和高尔基体和质体。基细胞具有遍布整个细胞的壁突起和折叠的隔膜系统将细胞质分离。帽细胞的显著特征是核仁明显,染色质遍及整个核质并沿核膜分布。基细胞肩部和底部与表皮细胞和叶肉细胞之间没有角质层隔开,而基细胞与附近的叶肉细胞和帽细胞邻接的壁上有明显的胞间连丝。帽细胞上部的角质层明显厚于周围部分,圆顶的角质帽上有一些小孔。基细胞的肩部与周围的 4 个叶肉细胞连接,腺体顶部角质层与表皮角质层连续,在角质层和帽细胞之间有一个空腔。帽细胞、基细胞及围绕它的 4 个表皮细胞共同组成盐腺复合体。

上述大米草的双细胞盐腺的结构与多细胞盐腺有很多共同之处,如细胞质浓稠、细胞核大、具多数线粒体和其他一些细胞器,细胞间有许多胞间连丝,细胞壁都角质化并出现许多细胞壁突起等,但两者又有较大差别,除腺体细胞组成的数目及排列不同外,双细胞盐腺基细胞和叶肉细胞邻接的壁上,没有角质层隔开,这一点与多细胞盐腺明显不同。

b. 盐腺的发育　盐腺的发育很早,在叶发育的早期就已开始,它的分化形成早于叶肉组织的分化。据报道,柽柳属、补血草属植物的盐腺均是由一个单独的表皮原细胞发育而成的。其中补血草属植物的盐腺是由一个表皮原细胞经过 5 次细胞分裂形成的包括有 20 个细胞构成盐腺复合体(图 2-14)。在第 4 次细胞分裂时,开始角质化,并形成 4 个收集细胞和 4 个杯状细胞母细胞,后者再进行 1 次分裂形成 4 个内层的杯状细胞和 4 个外层的杯状细胞。关于收集细胞有

人认为可划为盐腺一部分,加上收集细胞盐腺复合体一共20个。而Vassilyev的观点认为盐腺应不加收集细胞。柽柳的盐腺由一个质浓、核大、富含质体的原表皮细胞发育而来,该细胞经过一系列的对称及不对称分裂形成了6个分泌细胞,6个分泌细胞两两成对排列,彼此靠拢,形成3列。最外层2个分泌细胞核大,细胞器丰富,线粒体多;中间分泌细胞及内层分泌细胞核较小,细胞器少,线粒体少或无。内层的2个分泌细胞与2个收集细胞相连接(图2-14b)。丁烽和王宝山发现Ca^{2+}会明显影响二色补血草盐腺的发育(图2-15)。

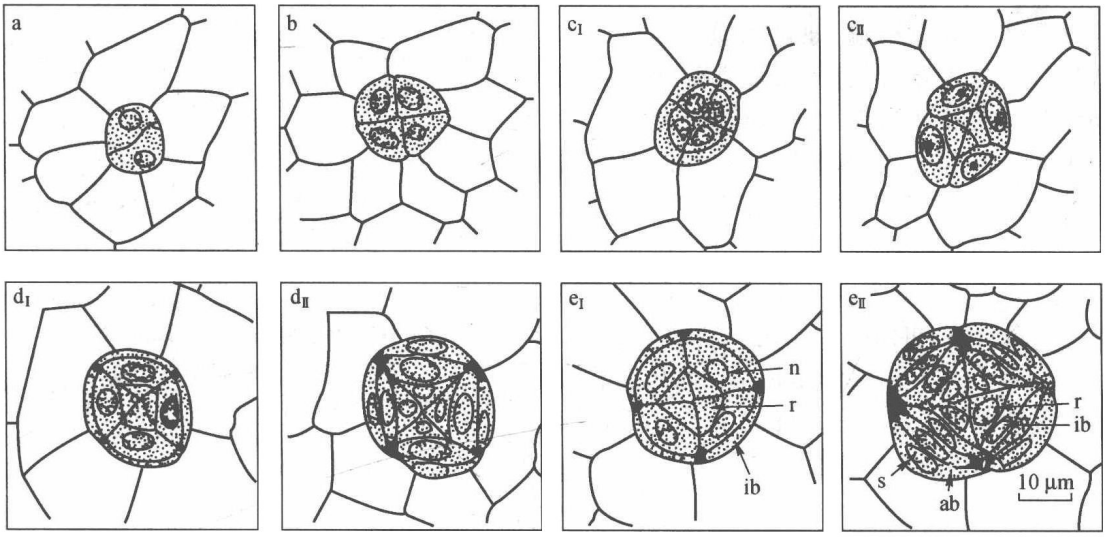
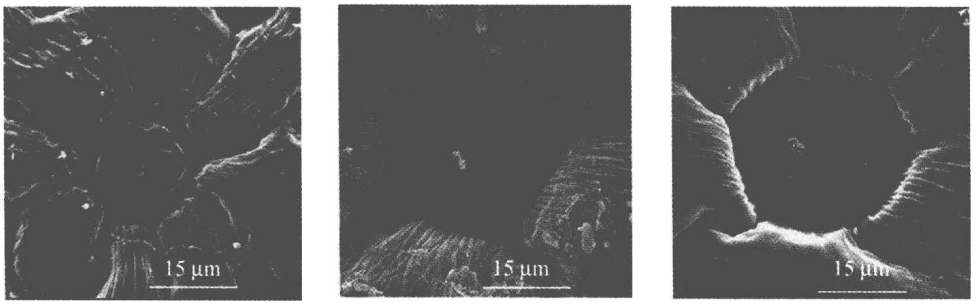


图2-14 补血草盐腺的发育过程示意图

r. 分泌细胞;n. 毗邻细胞;ib. 内杯状细胞;ab. 外杯状细胞;s. 收集细胞。(引自赵可夫和李法曾,1999)



(a) (b) (c)

图2-15 用含有不同浓度Ca^{2+}的200 mmol·L^{-1} NaCl溶液处理的二色补血草叶片盐腺的扫描电镜图

(a)0 mmol·L^{-1} Ca^{2+};(b)5 mmol·L^{-1} Ca^{2+};(c)20 mmol·L^{-1} Ca^{2+}。(引自Ding and Wang,2009)

c. 盐腺的分布 盐腺在植物体上的分布因植物种类及生长环境等而异。一般情况下,植物的气生部分如茎、叶片、叶柄或叶鞘等都有盐腺,其中以叶片最多,只有极个别植物茎上盐腺的数量超过叶片,也有些植物的盐腺分布在叶片上,植株其他部分均无盐腺,如海乳草(*Glaux maritima*)。禾本科植物的盐腺排列于叶片两侧,平行于叶脉,上下表皮的盐腺数量基本相同,盐腺数量通常少于气孔数量。盐度及一些物质如2,4-D、激动素和赤霉素对盐腺的数量仅有轻微的影响,苯酰腺嘌呤(benzyl adenine)能使盐腺数量加倍。但是在其他一些植物中情况不同,如生长在

高盐渍环境下的海乳草盐腺的数量明显多于生长在非盐渍环境下的叶片盐腺数量。通过对高盐环境下和低盐环境下生长的中华补血草盐腺的比较研究也得到了相同的结果。

d. 盐腺的泌盐作用　盐腺泌盐作用的详细机制尚不清楚。但是关于离子吸收、运输到达盐腺大体途径、盐腺泌盐的生理基础及盐腺泌盐的可能机制积累了一定资料。

① 离子的运输途径。盐离子进入根毛和表皮细胞后，即通过共质体和质外体两个途径经过皮层进入导管，但由于凯氏带的存在，离子只能由共质体向导管运输，通过木质部薄壁细胞进入导管。进入导管的离子，随着蒸腾流进入叶肉细胞。在从叶肉细胞进入腺体细胞时，由于腺体细胞的部分细胞壁的角质化和木质化，离子只能通过共质体进入由多细胞组成的盐腺细胞。在另一些植物中，离子也可以通过共质体和质外体这两个途径进入由两个细胞组成的盐囊泡的柄细胞，再由柄细胞进入囊泡细胞（图 2－16）。离子进入盐腺细胞以后，即可通过盐腺的分泌细胞壁上的小孔，将盐离子分泌到细胞外。另外，离子进入囊泡后，即暂时贮存在囊泡里，如果遇到破坏因子，如大风、暴雨或触碰，则会将盐离子释放出来。

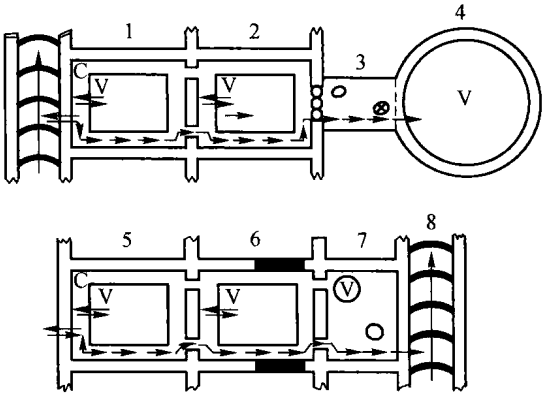


图 2－16　叶盐腺系统和根部溶质运输系统中溶质运输途径和方向

C. 细胞质；V. 液泡；1. 叶肉；2. 表皮；3. 柄细胞；4. 囊状细胞；5. 表皮皮层；6. 内皮层；7. 中柱鞘薄壁细胞；8. 导管。（引自赵可夫和范海，2005）

② 盐腺分泌的物质及其浓度。盐腺分泌的物质及其浓度差异很大，主要分泌无机离子，另外也分泌一些微量的有机物质，例如可溶性糖、氨基酸、小分子蛋白质等。盐腺可分泌多种常见的离子，如 Na^+、K^+、Ca^{2+}、Mg^{2+}、Cl^-、NO_3^-、SO_4^{2-}、PO_4^{3-} 等，另外也可以分泌一些不常见的离子，如 Rb^+、Cs^+、Br^-、I^- 等。泌盐盐生植物分泌盐分的能力范围是很大的。一般情况下，24 h 内可以分泌 150 mg 流体。补血草叶片 24 h 可以分泌 70 mg 流体，*Aegialitis* 属植物的盐腺的分泌可以达到每秒每平方厘米叶分泌 90 pEq 的盐。根据已报道的资料，在生物系统中这是最大的分泌速度。盐腺分泌的离子种类、浓度和速度与外界培养基的离子浓度组成有关，一般情况下，分泌物中的离子浓度随根际离子浓度而变化，呈正相关，在培养基中 Na^+ 浓度增大时，分泌物中的 Na^+ 浓度也随之增大，叶片中 Na^+ 含量也增大。另外培养基中的离子组成对盐腺分泌物中的离子含量也有明显影响。在培养基只含 NaCl 的条件下，盐腺分泌物中 Na^+ 浓度随培养基中 NaCl 浓度增大而升高，K^+ 和 Ca^{2+} 浓度变化不大，当培养基中加入 KCl 时，分泌物中 K^+ 浓度升高，Na^+ 下降，当培养基中加入 $CaCl_2$ 时，分泌物中 Na^+ 浓度降低，Cl^- 降低，但 Ca^{2+} 浓度变化不大。培养基中加入 $MgCl_2$ 时，分泌物中 Na^+、Cl^-、K^+ 都下降，Ca^{2+} 变化不大。有的研究还指出，当培养基中加入植物不需要的离子时，例如 Rb^+、Cs^+ 等，则在柽柳和补血草的盐腺分泌物中也出现 Rb^+、Cs^+ 等离子，这说明盐腺对离子种类的选择性是不严格的。不同盐类的联合作用对盐生植物盐腺分泌物中的离子含量也有明显的影响。一般情况下，离子的分泌速率随着根际离子浓度的升高而增大，补血草叶片盐腺 Na^+ 和 K^+ 分泌速率随着 NaCl 和 KCl 溶液处理浓度的升高而增大（图 2－17）。

e. 盐腺泌盐的生理过程 有许多生理证据证明盐腺的分泌作用是一个主动的生理过程。①盐腺分泌物的浓度高于根际的培养基浓度,说明离子从盐腺临近细胞进入盐腺是逆着浓度梯度进行的。Berry(1970)报道,柽柳盐腺的分泌物浓度,较根际培养基的浓度高50倍。②盐生植物盐腺的分泌作用与外界温度有关。Arise 等(1955)发现,当用5~25 ℃温度处理补血草叶片时,其盐腺的分泌作用可增大8倍。另外,发现分泌作用增大,其中的 Cl^- 浓度在不同温度下基本保持一个常数,说明盐腺对不同离子的分泌速率还是有选择性的,Ding 和 Wang 用相同浓度的 NaCl 或 KCl 溶液处理补血草,发现盐腺 Na^+ 的分泌速率高于 K^+,也证明了这一点(图2-17)。③盐生植物盐腺的分泌作用与光照有关。不少人发现盐生植物盐腺在光照下分泌作用强,在黑暗中分泌作用明显下降。但是海榄雌属植物的盐腺在夜晚分泌活动最强,在白天减弱。④盐生植物盐腺的分泌作用随昼夜变化而变化。Scholander 等(1962)发现红树植物阿吉木属(*Aegialitis*)和蜡烛果属(*Aegiceras*)植物盐腺的分泌作用在早上、中午、晚上和夜间都不一样。白昼分泌作用大,夜间小。光对盐腺分泌作用的影响,看来是双向性的,其直接效应可能与光诱导的电子传递和离子运输有关,还可能作用于蒸腾速率和木质部蒸腾流速率作用的分泌作用,显然,分泌作用与光诱导的代谢密切相关。⑤一些代谢抑制剂对盐腺的分泌有明显作用。许多人发现,一些低浓度的代谢抑制剂,例如氰化钾、叠氮化钠、氟化钠、亚砷酸盐等可以轻度促进盐腺分泌,如果浓度增大,达到 5×10^{-3} mol/L 时,则对盐腺产生明显的抑制作用。

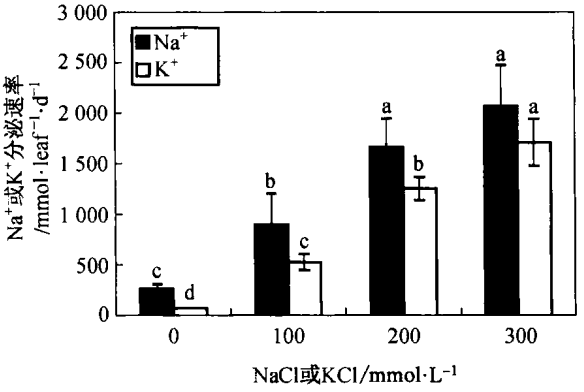


图2-17 NaCl 或 KCl 处理25 d 对中华补血草第4片叶上表面盐腺泌盐速率的影响

(引自 Ding 和 Wang,2009)

以上5个方面的实验足以证明盐腺的分泌作用是一个主动的生理过程。通过盐腺的泌盐作用,可将植物组织中过剩的盐分分泌到体外,或贮存到囊泡中,以调节组织的含盐量,使组织免遭盐离子的毒害。Arize 等将盐生植物带有盐腺的叶片浮在一定盐度的盐溶液上,叶片不断从盐溶液中吸取盐分,由于盐腺的分泌作用,叶片中汁液的 Cl^- 浓度还是降低的,如果放在无离子水上,叶片汁液中的 Cl^- 浓度会更低,这充分说明盐腺具有泌盐作用。

但是,以上这些结果都是以叶片为研究材料,而不是针对盐腺,是对盐腺分泌能力的相对估计,是在气孔和其他渗漏过程相同的前提下所做的分析,实际上盐处理的叶片通过非盐腺途径的分泌和渗漏也会显著增加。现在可以用**非损伤微测技术**(non-invasive ion-selective microelectrode techniques)直接分析盐腺的泌盐作用。非损伤微测技术是一种选择性离子/分子微电极技术,是由 Kühtreiber 和 Jaffe 在1990年设计的一套由计算机控制的自动定位测量系统演变发展而成。非损伤微测技术以其特有的非损伤性测量方式逐渐被广泛应用到基础生物学、生理学、神经生物学、环境科学、药理学、材料科学等诸多领域。目前,非损伤微测技术不但可以测量 H^+、Na^+、Cl^-、Ca^{2+}、K^+、NH_4^+、Al^{3+}、Cd^{2+}、NO_3^-、氨基酸和 O_2、CO_2、NO 及温度等参数,而且可以同时采集多种离子及参数,为获得生物样品外分子或离子运动的有关信息提供了良好的实验平台(Kunkel 等,2006)。被测样品可以是非生命物体,如金属;或生物活体,如细胞器、单个或多个细

胞、组织甚至器官。测量不仅方便、快捷、三维和实时，而且对被测对象不会产生任何伤害。应用非损伤微测技术可以对单个盐腺泌盐种类和泌盐速率进行动态、直接、精确的测量，从而为解决上述问题提供了最直接最可靠的手段。

盐腺泌盐机制　关于盐腺的分泌机制，离子进入盐腺是逆着电化学浓度梯度进行的，只知道它是一个主动的生理过程，其所需要的能量均由代谢提供，对低氧和低温特别敏感，详细过程目前尚不清楚，仍停留在假设阶段。

① 分泌作用的渗透机制假设　这个假设是由 Arize 等(1955)提出的。盐离子主动地积累到盐腺细胞中，从而增大盐腺细胞的渗透势，即导致流体静压力的产生，当盐腺压力达到最高水平之后，则通过周期性的微水滴向盐腺分泌细胞外部排出，以解除这种压力，认为盐腺的分泌作用，俨然是一个物理过程。

② 盐腺的分泌作用是胞饮的相反过程的假设　这个假设是由 Ziegler 和 Lüttge(1967)以及 Shimony 和 Fahn(1968)提出的。他们认为盐腺的分泌作用，是通过以前积累在一些小细胞质囊泡中的盐液，向细胞外表面排出的过程，这是一个相反的胞饮现象。在植物的某些阶段也会发生这种现象，例如膜结构的临时变化以及细胞质组分的泄漏，也会发生分泌作用。

③ 盐腺的分泌作用类似动物液流运输系统假说　这个假说是由 Levering 和 Thomson(1971，1972)提出的。他们发现大米草属植物的盐腺显著不同于双子叶植物的，盐腺基细胞中的唯一特点是具有围绕胞外通道的各种分割的膜，这种结构参与分泌作用。另外，通过这种特殊结构与动物细胞组织系统的比较研究，发现大米草属植物盐腺的分泌机制几乎与动物液流运输系统相同。他们提出在盐腺基部细胞中有一个主动地将离子分泌到分割膜的胞外通道的作用，这个过程是通过利用线粒体提供的能量来完成的。如果假设有一个耦联的溶液－水的运输系统，则水分将被动地沿着渗透梯度通过基细胞并进入胞外通道。

近年来，泌盐机理研究进展缓慢，对上述假说既无证实也无反驳的报道。对泌盐盐生植物的泌盐过程和机制的研究，已经确定盐囊泡和盐腺的形态构造，基本了解了它们的泌盐过程和规律以及不同类型盐生植物抗盐生理的热力学特点等。盐腺或盐囊泡的泌盐机理还有待进一步深入研究。在泌盐盐生植物的抗盐生理中还有一些重要而且富于挑战性的问题至今尚不清楚。我们认为可以从以下三个方面着手：①盐腺发育的分子机理及其与环境之间的关系。我们已经了解花发育过程中决定花器官特征的 ABCD 模型，那么组成盐腺的不同种类细胞的发育是否由不同类型的基因控制，这是一个非常有意思的问题，另外，不同环境因子对盐腺的发育会产生何种影响以及产生这种影响的分子机理也是非常值得探讨的；②盐腺泌盐的生理及分子机理，主要包括质膜上是否有 Na^+－ATPase 以及 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白等参与离子分泌的蛋白质，它们在分泌细胞的生物膜上的定位及其性质和特点。现在已经确定了 Na^+－K^+ ATPase 在动物盐腺泌盐过程中的主导地位，植物质膜上 H^+－ATPase 作为植物细胞的主宰酶，其在泌盐过程中的重要作用是可以肯定的，那么植物质膜上是否有 Na^+－ATPase 是非常值得研究的；第三，为什么某些泌盐盐生植物一个单独的表皮原细胞发育成盐腺，而另一些表皮原细胞发育成表皮，其发育的分子调控机理是什么都是生物学基本问题。

2.4.3　稀盐的形态学基础

有一些盐生植物，虽然没有盐腺或盐囊泡结构，但它们生长在盐渍环境中，仍能使细胞质内

保持低盐浓度,免受盐害。这类盐生植物的主要手段是在其生长过程中,植物不断进行细胞分裂和细胞扩大,把从外界吸收盐离子并积累在液泡中,这样细胞一方面避免离子毒害,另一方面细胞水势降低,继续从高盐环境中吸水,从而导致叶片或茎部不断地肉质化。

肉质化实际上是描述肥厚肉质植物器官的形态学术语。在这类器官中表面积和体积的比例或表面积与鲜重的比例较低。对于与水分饱和并与大气处于平衡状态的器官来说,一个便于使用的肉质化指标是水分含量与表面积的比例。若采用这种表示方法,则多汁(succulent)与肉质(fleshy)之间的差别显然是逐渐的,而非截然不同的。通常情况下,可以用鲜重/干重表示器官肉质化程度。

从解剖角度来看,肉质组织通常相当均一,并由大的等径细胞(通常是球形)组成。这类细胞具有大的中央液泡,其细胞质占细胞总体积的比例很小。从而导致肉质化组织内干重(dry weight,DW)对鲜重(fresh weight,FW)的比例很小,或肉质化程度很高。景天酸代谢(crassulacean acid metabolism,CAM)仅发现于细胞中含有叶绿体的肉质组织中,并根据叶绿体(或叶绿素)与液泡体积的比例而提出肉质性的定义,但 CAM 植物的肉质化与耐盐无关,而与抗旱有关。

尽管肉质性是个形态特征,但它却与叶的功能有密切关系。当然需要从生理学角度给肉质性进行定义比较困难。就功能而言,肉质性需要水分和诸如无机盐或有机代谢产物等渗透活性溶质的贮存。因此,通过肉质化植物中的水分关系和溶质膜转运的生物物理评估可得出生理学定义。

但必须注意肉质化并不是盐生植物的特有现象,旱生植物和 CAM 植物(大叶落地生根和仙人掌等)也有典型肉质化特征。但是其诱导发生肉质化的环境因子及功能是不尽相同的。

在盐生植物、旱生植物和 CAM 植物中广泛观察到的一种效应是肉质性随着叶龄增长而增长。在盐土植物中,这种现象通常认为是稀释所吸收盐分的手段,从而可防止 NaCl 的浓度过高。与此观点一致的例子是红树,这类植物在个体发育过程中叶片厚度增加很多;但以鲜重为基础的 Cl 含量却增加不多。在滨藜属的 *Atriplex triangularis*,根系基质中 NaCl 的增加导致叶片厚度的增加,同时伴随着细胞数目减少细胞体积增大。细胞体积的增大伴随着液泡体积的增大,在某些盐生植物肉质化过程中有液泡化现象(由小液泡变成中央大液泡)。盐生植物肉质化过程中把吸收的 Na^+ 和 Cl^- 区域化到液泡中,一方面避免了胞质中 Na^+ 积累对其生理代谢的干扰,另一方面降低了细胞水势,保证从环境中继续吸水。

盐渍度增加对叶片形态学的作用是多方面的。除了肉质化程度增加之外,角质层加厚和木质部导管数目及大小方面的变化也对植物水分关系具有重要影响,为了确定盐渍化在细胞水平的作用,仍需开展一定的研究工作。这些效应可能都十分复杂。例如,Berlin 等发现缺水的棉花叶子叶肉细胞比灌溉棉花稍大,液泡则大得多。不过,前者的叶面积和体积却比对照小得多,所以这两类叶子液泡的总体积实际上差不多。这种将细胞水平的差异与生长速度和生产率的差异联系起来的研究方法,可在盐生植物方面加以推广。

值得注意的是在某些场合,肉质化与 CAM 之间存在一定关联。伽蓝菜属的大叶落地生根(*Kalanchoe blossfeldiana*)在长日照下栽培的植株表现白天 CO_2 固定,而短日照下栽培的植株则表现为 CAM;同时,后者肉质化程度明显增加。这种反应可能与盐生植物相似,因为 CAM 植物中液泡是苹果酸的暂存场所。冰叶日中花在盐渍压力下肉质化增强,与 CAM 诱导及苹果酸在液泡中积累有关。

许多旱生植物在缺水时茎和叶发生肉质化，其肉质化组织有两类细胞，一类是具有叶绿体（绿色组织）和无叶绿体（无色）细胞，前者具有光合作用和贮水双重功能，后者仅有贮水功能，如仙人掌等。应强调的是这类植物耐旱，但对盐敏感，而盐生植物盐地碱蓬则只有含叶绿体的大薄壁细胞，盐地碱蓬耐盐，但对干旱敏感。还有一些兼性 CAM 植物（如冰叶日中花），在干旱和盐渍条件下都发生肉质化，碳同化途径均由 C_3 途径转变成 CAM 途径，既有绿色组织也有贮水无色组织，所以，这类植物既耐干旱又耐盐碱（图 2－18）。

(a)　(b)　(c)

图 2－18　冰叶日中花

（a）试管苗；（b）成熟苗；（c）开花植株。（引自 Wang 等，1994）

是什么原因诱导植物在逆境条件下发生肉质化？植物肉质化机理主要有以下几种观点：①Na^+ 和 Cl^- 是促进盐生植物地上部分肉质化的主要因子，而相同浓度的其他离子则没有这种作用；②ATP 代谢是肉质化的重要因子，因为 Na^+ 浓度能导致 ATP 合成的增大，例如 100 mmol/L NaCl 处理显著促进盐地碱蓬净光合作用速率增加，表明可以促进光合磷酸化；③氯化物引起植物肉质化的原因与氯化物造成植物细胞原生质膨胀有关；④在盐渍条件下，盐离子引起细胞壁的一些结合状态络合物分解，从而导致肉质化；⑤盐分胁迫能抑制细胞分裂，并能刺激细胞的伸长，降低细胞数目增加的速度，加快细胞体积增加。上述观点都有一定的实验依据，但证据都不充分。Na^+ 和 Cl^- 可以促进肉质化，但如何促进，并不了解。近年来还发现在某些发生肉质化的景天科植物中，其质膜和液泡膜上水孔蛋白含量很低，因此细胞膜的渗透性低，在干旱情况下细胞中的水分不容易失去，植物会发生肉质化，有利于植物在干旱环境中的生存。但也发现发生肉质化的某些植物，其质膜水孔蛋白表达量较高。同样，在盐渍条件下也有实验证实随着盐地碱蓬肉质化程度的增加叶片质膜上的水孔蛋白含量随之增加。肉质化与水孔蛋白表达之间的关系还存在着争议。总之，直到目前为止，引起植物肉质化的机理还很不清楚，有待深入研究。

盐渍和干旱的问题在当今世界日益突出。在盐渍条件下，有不少盐生植物会发生肉质化来适应环境，而在干旱条件下也有许多植物会通过肉质化来适应渗透胁迫维持自己的生存，还有少数植物在盐渍和干旱条件下都会发生肉质化来适应逆境。因此研究肉质植物在不同环境条件下发生肉质化的生理及分子机理，可以为培育耐干旱、耐盐渍作物提供理论基础。

2.5 盐胁迫对植物的伤害

无论是盐生植物还是非盐生植物超过其耐盐阈值都会受到伤害,在分子、生理生化、细胞、组织器官和个体不同水平上表现出盐害。

2.5.1 盐害

植物生长环境中的盐分超过其耐盐阈值时,就会引发植物有机体在所有功能水平上产生变化和反应,即发生胁变。如果盐分浓度不太大或处理时间不长,则产生的胁变不大,而且是可逆的;如果浓度很高,或作用时间较长,则产生的胁变较大,胁变往往即变成不可逆的,时间长了则会导致植物死亡。这种由盐分胁迫对植物产生的胁变,称之为植物的**盐害**(salt injury)。

2.5.2 盐害和离子害

盐害实际上主要是盐离子导致的,但盐害和离子害又是不同的。根据 Levitt 的定义,如果盐浓度足以降低植物的水势(0.5 ~ 1) $\times 10^5$ Pa 时,由此而对植物产生的伤害作用称之为盐害。如果盐的浓度不足以降低植物水势,但对植物体同样可以产生伤害作用,此种伤害称之为离子害。盐害多指 Na 盐、Mg 盐和 Ca 盐解离后生成的 Na^+、Mg^{2+}、Ca^{2+}、Cl^-、SO_4^{2-}、CO_3^{2-} 等离子毒害,这些离子要在浓度相当高的情况下才会致害,由于浓度高,除了产生离子的直接伤害外,还会产生由渗透胁迫产生的伤害作用。而我们这里指的离子伤害主要是指一些在低浓度下就能产生伤害作用的离子(通常指重金属),如铜、汞、锌、镉、钴、铅等。一般的离子伤害浓度常在 10^{-3} mol/L 以下,所以不会产生渗透胁迫。

这里还要强调一点,由高浓度盐产生的渗透胁迫伤害。过去往往把高浓度盐产生的渗透胁迫伤害划分为次生伤害。但是,盐分胁迫和水分胁迫之间存在着不可分割的关系。由于过多的盐加入水中除了显著提高离子浓度之外,也必然降低其水势,使植物根系吸水困难,或者根不能吸收,甚至排出水分,于是组织即遭到渗透脱水,造成细胞水分亏缺,影响细胞内的一系列代谢反应,最终导致伤害。这种情况对于一次性给植物浇灌高浓度盐溶液就更为明显,严重是导致细胞明显质壁分离,是典型的渗透胁迫的例子。由高浓度盐产生的渗透胁迫伤害一般发生在盐处理的早期,也就是 Munns 所说的第 1 阶段。

高浓度盐分产生的渗透胁迫主要来自土壤盐度,可以在许多方面获得证明。需要提出的是,在盐分胁迫所诱导的渗透胁迫伤害中,只有盐分不进入细胞,真正渗透效应才能发生,这种情况一般发生在盐分胁迫的初期,特别是把植物一次性放入高浓度的盐溶液中,植物很快做出响应,如萎蔫,气孔关闭等,某些基因的表达甚至 1 h 或更短时间做出显著响应。必须强调的是这些响应是由高浓度的盐溶液所产生的渗透效应引起的,即所谓的渗透冲击效应(osmotic shock),而不是盐的直接作用。由于这种原因,也把高浓度盐分产生的渗透胁迫归为次生胁迫。一些等渗的溶液不能同等地作用于植物,有的作用大一些,有的作用小一些,例如用等渗的 PEG(聚乙二醇)、NaCl 和甘露醇溶液处理牧草种子,其萌发都受到明显抑制,但抑制程度不同,抑制作用大小顺序是:PEG > NaCl > 甘露醇。因为 NaCl 和甘露醇可以进入种子,降低种子的渗透势,所以它们的脱水作用与不能进入细胞的 PEG 不同。同样,盐分胁迫可以引起气孔关闭,从而减弱叶片的

蒸腾和光合作用。如果盐分进入保卫细胞,则它们可以通过逆转保卫细胞的渗透势,导致气孔开放,从而增大叶片的蒸腾和光合作用,这也是为什么盐分胁迫的初期植物发生的萎蔫、气孔关闭等响应在盐处理一定时间后会初步恢复的原因之一。

2.5.3 原初盐害

(1) 概念

盐分胁迫的**原初伤害**(primary injury),是盐离子本身对植物产生的伤害,即离子胁迫导致的伤害。从时间上来讲是最早发生的伤害,从部位上来讲,是最早接触盐分胁迫的部位。当生境中离子浓度增大以后,对植物细胞的生理功能即产生伤害,最明显的伤害之一就是质膜选择透性的破坏,即透性增大,胞内的部分溶质,例如 K^+ 及小分子有机物质大量外渗,外界盐离子大量进入细胞,导致代谢紊乱,离子稳态破坏,产生一系列异常反应,甚至导致植物体死亡。很显然精确分析和定位原初伤害对于了解植物抗盐机理是非常重要的。但是,具体确定原初伤害并不是一件容易的事情。

(2) 原初伤害产生的机理

目前,关于盐分胁迫的原初直接伤害,归纳起来有四种观点:①根系的水分亏缺,导致叶片的生长抑制,这种观点认为盐分胁迫对植物的原初效应发生在根部,是根系的水分状况造成的,而不是盐分本身。当植物受到盐分胁迫时,木质部水势会突然下降,运入生长区的水分就会减少,因而抑制生长。通过渗透调节和细胞壁松弛增大水分的摄取,这种抑制效应即可停止(Nonami 和 Boyer,1989;Cramer 和 Bowman,1991)。Yeo 等(1991)发现,水稻生长在盐胁迫下仅 1 min,其叶片的延长就受到抑制,认为这种原初的生长降低是由于水分供应受到抑制造成的;②地上部分顶端分生组织的营养被破坏导致叶片的生长抑制,这种观点认为植物地上部分叶延长是不依靠根的,根仅是盐毒性的传感器(Cramer 和 Bowman,1991),限制叶片延长生长的因子可能存在于地上部分。另外,认为盐分胁迫的初期地上部分顶端分生组织的营养被破坏,因而影响正在扩展的叶片,因为地上部分分生组织是正在扩展的叶片的信号源(Lazof 和 Lauchli,1991);③细胞 Ca^{2+} 的自动动态平衡遭到破坏导致叶片的生长抑制,这种观点认为盐胁迫对叶片延长生长的抑制作用是快速产生的(加入 NaCl 后 1 min 即可测出,Yeo 等,1991)。叶片延长是不依靠根的(Cramer 和 Bowman,1991),以及第二信使 Ca^{2+} 在植物生长发育中的重要作用(Lauchli,1990;Lauchli 和 Schubert,1989)。因此,盐分胁迫对植物的原初效应是,在影响水分供应的同时,也降低 Ca^{2+} 的供应,从而破坏细胞的 Ca^{2+} 稳态(Ca^{2+} homeotasis)。已经证明,在 NaCl 胁迫下细胞中的 Ca^{2+} 可以被 Na^+ 置换出来,从而降低细胞 Ca^{2+} 的水平。另外,在细胞 Ca^{2+} 水平降低的同时,Na^+ 大量进入细胞,这样可以导致木质部汁液中 Ca^{2+} 水平降低和 Na^+ 水平增大,结果会进一步导致叶片和茎顶部分生组织 Ca^{2+} 水平降低,如此则降低 Ca^{2+} 的第二信使的作用,进而降低钙调素(CaM)所调控的各种代谢活动,抑制植物的生长和发育(Rengel,1992);④根源 ABA/IAA 增加导致叶片的生长抑制,20 世纪 90 年代后 Davies 和张建华大量结果表明,干旱和盐胁迫下根系木质部导管中 ABA 很快成倍增加而 IAA 等则下降,随着蒸腾作用的进行,ABA 很快运到地上引起气孔关闭和叶片生长抑制等。

综上所述,关于盐分胁迫对植物的原初效应并没有完全了解清楚,看来原初效应不是单一的,很可能是综合效应。植物生长在盐渍环境中,由于质膜是有机体与外界环境的界面,所以植

物细胞质膜首先接触盐分,盐分胁迫首先并直接影响细胞质膜。问题是细胞质膜有无感受盐分胁迫的受体?如果有,是什么?它如何把盐分胁迫信号转化成细胞内信号并引起应答基因的调控和生理生化反应是抗盐机制研究的关键问题之一。

Marschner 等(1973)发现,用 25 mmol/L NaCl 或 Na_2SO_4溶液处理大麦,大麦叶片细胞中 K^+大量外流,证明在盐胁迫下植物细胞质膜选择性透性遭到破坏。我们用 150 mmol/L NaCl 溶液处理非盐生植物小麦,其叶片细胞质膜透性显著增大,证明在盐胁迫下叶细胞质膜的完整性遭到破坏,胞内电解质大量外渗,而加入 10 mmol/L 海藻糖溶液可显著缓解 NaCl 处理对细胞质膜的破坏(图 2-19)。关于质膜选择性透性破坏的机理及感受盐分胁迫的专一受体将是今后研究的重点之一。

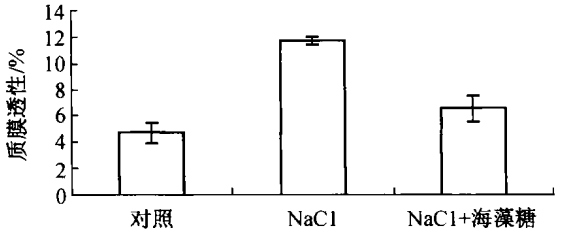


图 2-19 外源海藻糖对 NaCl 胁迫下小麦幼苗叶片细胞质膜相对透性的影响

(引自丁顺华等,2005)

(3) 原初伤害导致的某些代谢破坏

光合作用 盐浓度超过一定值后对盐生植物和非盐生植物的光合作用都是抑制的,并且降低程度与盐浓度呈正相关。但是,较高盐浓度(100~200 mmol/L NaCl 溶液)显著促进盐生植物光合作用速率,而对非盐生植物光合作用速率产生显著抑制作用。我们的结果表明:一定浓度的 NaCl 溶液(0~400 mmol/L)处理对盐生植物盐地碱蓬叶片的光合速率没有抑制作用,在 200 mmol/L NaCl 溶液处理时反而有明显促进作用(图 2-20),与之相应的是生长受到明显促进(图 2-21)。

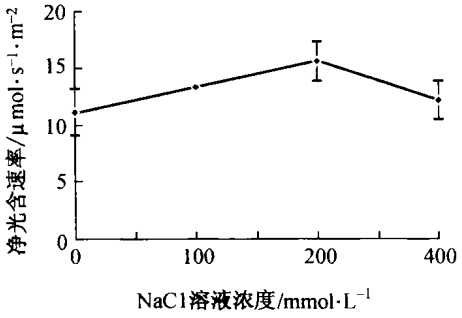


图 2-20 NaCl 溶液处理对盐地碱蓬叶片净光合速率(P_n)的影响

(引自庞彩红,2004)

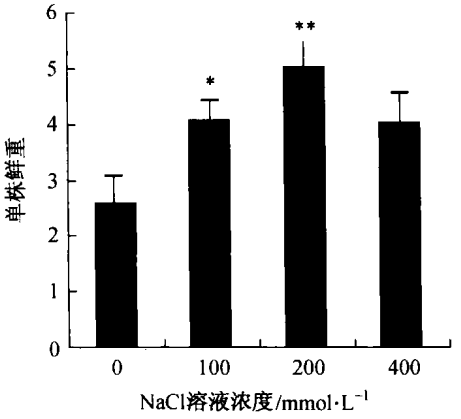


图 2-21 NaCl 溶液处理对盐地碱蓬整株鲜重的影响

(引自 Qiu 等,2007)

非盐生植物则不同,不同浓度的 NaCl 处理菜豆和棉花,其生长(叶面积)受到明显的抑制,24 h 后的光合强度(光周期 CO_2 净固定和每 24 h CO_2 净同化)也受到明显的抑制(表 2-6)。NaCl 对菜豆和棉花光合作用的抑制程度随外界 NaCl 浓度的增大而增大。

表 2-6 NaCl 对菜豆和棉花光合的效应(引自 Hoffman 和 Phene,1971)

	盐度/bar	叶面积/(dm^2/植株)	光周期 CO_2 固定/ $mg \cdot dm^{-2} \cdot d^{-1}$	每 24 小时 CO_2 净同化/ $mg \cdot dm^{-2} \cdot d^{-1}$
菜豆	0.4	28.6	78.1	60.4
	2.4	11.7	66.1	38.1
	4.4	9.0	48.5	27.8
棉花	0.4	30.4	57.0	46.3
	6.4	23.8	44.1	28.6
	12.4	18.3	41.4	22.5

关于 NaCl 抑制非盐生植物光合作用的机理,主要是通过气孔因子和非气孔因子,前者主要发生在盐胁迫早期或中轻度胁迫,而后者主要发生在盐胁迫后期或重度胁迫。①气孔因子:气孔开度减小,运输阻力增加等都影响光合气体交换,例如阻碍 CO_2 进入光合系统;②非气孔因子:破坏叶绿体结构和功能;光反应和暗反应受抑制;抑制光合产物运输,产生反馈抑制等。

呼吸作用　关于盐胁迫对呼吸作用效应的报道,其实验结果大多数是矛盾的,会因植物种类、器官、发育阶段、盐处理的时间和强度等有关。有人认为盐分胁迫抑制植物的呼吸作用,发现盐胁迫抑制小麦、绿豆和棉花等植物的呼吸作用;有的作者认为盐胁迫可以促进植物的呼吸作用,发现 NaCl 促进这些植物的吸呼作用。

盐度对呼吸作用的效应,主要是通过影响呼吸过程中酶活性或线粒体的结构而产生的。从已报道的酶活性研究可以看出,盐度对三个豌豆品种和两种豌豆属植物糖酵解途径中的一些关键酶活性产生的作用不同,例如磷酸葡萄异构酶、磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶和醛缩酶,有的酶活性被促进,有的没有作用,并在不同品种和不同种中表现不同,在某些品种植物中被促进,在某些品种植物中被抑制,或者没有作用。盐胁迫对线粒体的结构的影响相对于叶绿体等显得较稳定,如 0.6% 的 NaCl 溶液处理豌豆幼苗 12 d,叶绿体和细胞核结构已明显发生变化,而线粒体的结构与对照没有显著改变。但是,高浓度盐处理就会导致线粒体的结构的破坏。用浓度 100 mmol/L NaCl 溶液处理玉米,根尖分生组织细胞的线粒体的结构膨胀、变圆及内嵴减少。

Lesszni 和 Andropoulos-Renaud(1989)认为,一般情况下,低浓度可以促进植物的呼吸,高浓度抑制植物的呼吸。例如,0~5 g/L 浓度的 NaCl 溶液促进苜蓿呼吸,并随盐度增大而增大,当浓度为 5 g/L 时,其呼吸强度较对照增大 40%,而生长在 10 g/L NaCl 溶液中,呼吸作用下降 10%。Hoffman 等用不同浓度 NaCl 溶液处理菜豆和棉花,也发现菜豆在低盐度下其呼吸被促进,在高盐度下被抑制,棉花在该实验浓度下却是被促进的(表 2-7),因为棉花是耐盐的,实验浓度较低,还没有达到抑制呼吸的程度。

表 2-7 NaCl 对菜豆和棉花呼吸作用的影响(引自 Hoffman 和 Phene,1971)

	盐度/bar	叶面积/(dm^2/植株)	暗期中 CO_2 的放出/(mg/dm^2/d)
菜豆	0.4	28.3	17.7
	2.4	11.7	28.0
	4.5	9.0	20.7
棉花	0.4	30.4	10.7
	6.4	23.8	15.5
	12.4	18.3	18.9

关于 NaCl 增大呼吸作用的机理还不是很清楚。Cordon 等提出是由于离子运输系统的活化导致的,特别是在质膜上离子运输系统的改变,如非选择性阳离子通道(nonselective cation channel)打开,导致大量 Na^+ 进入细胞质和线粒体,直接作用于呼吸链引起呼吸作用增加。另外,一定盐处理也能促进呼吸代谢途径中的某些酶活性。此外,在盐分冲击(生境中突然加入高浓度的盐)的情况下,往往会迅速诱导细胞发生质壁分离,造成质膜甚至原生质损伤,也会引起呼吸增大,这种增大的呼吸称为创伤呼吸。盐胁迫也可能通过诱导与呼吸有关的植物激素含量(乙烯等)的改变而影响呼吸速率。

糖类代谢 盐胁迫既然影响生长发育、光合作用和呼吸作用,就必然影响糖类代谢。至于是促进还是抑制,还是没有影响则与植物种类、发育阶段、器官及胁迫程度有关。

Munns(1982)对盐度影响植物糖类代谢进行了广泛研究,180 mmol/L NaCl 处理处理大麦发现,快速延长部位(从第 3 个叶片基部 0 ~ 20 mm 处),下午和早晨其中总可溶性糖类较对照(0.5 mmol/L NaCl)高 60% ~ 100%,淀粉不受 NaCl 影响(表 2-8),并且在所有处理中构成大约 10% 的不溶于乙醇的干物质。另外,游离的葡萄糖 + 果糖与转化酶分解的葡萄糖 + 果糖的比率,在所有正在生长的部分,120 mmol/L 和 180 mmol/L NaCl 溶液处理的均低于对照(0.5 mmol/L NaCl 溶液)(表 2-9)。这些结果说明在高浓度 NaCl 处理下增大的糖类浓度,不是通过促进植物糖类增加,而抑制植物细胞分裂和扩大减少光合产物糖类消耗所致。

表 2-8 NaCl 对大麦正在生长和已经扩大的叶片部分糖类浓度的效应

		糖类浓度			
		正在生长区(0 ~ 20 mm)		已扩大区(>40 mm)	
		对照	180 mmol · L^{-1} NaCl	对照	180 mmol · L^{-1} NaCl
午后收获	可溶性糖	32	53	17	19
	淀粉	12	12	14	15
	总量	44	65	31	34
黎明收获	可溶性糖	14	29	4	6
	淀粉	10	11	5	7
	总量	24	39	9	13

注:对照盐浓度为 0.5 mmol · L^{-1} NaCl。(引自 Munns 等,1982)

表 2-9 生长在 0.5、120 和 180 mmol/L NaCl 溶液下 5 d 大麦的正在生长的叶片(叶 3)和成熟叶片(叶 1 和叶 2)中单糖与由转化酶水解出来的寡糖的比率(引自 Munns 等,1982)

叶片	游离葡萄糖 + 果糖 / 转化酶分解出来的葡萄糖 + 果糖		
	NaCl 溶液浓度/mmol · L^{-1}		
	0.5	120	180
叶 3(0 ~ 20 mm)	0.16	0.085	0.09
叶 3(20 ~ 40 mm)	0.68	0.41	0.38
叶 3 > 40 mm	0.31	0.19	0.15
叶 1 和叶 2			很低

氮素代谢　植物的氮素代谢包括无机氮的吸收、运输、同化成氨基酸和进一步合成蛋白质及蛋白质分解。一般来说,盐胁迫对植物的氮素代谢的各个过程都有影响。

植物的氮素代谢主要经过四个步骤:第一,无机氮的吸收和运输,主要是根系从环境中吸收无机氮;第二,无机氮向低分子有机氮的转变,在高等植物中,这一步是不可逆的,意思是说氮素一旦被转变成有机形式,它将以此种形式长期保存在植物体中;第三,高分子量氮化物的合成以及作为合成反应合成单位的氨基酸的合成;第四,增大水解酶的活性,分解大分子氮化物。

植物既能吸收和同化 NO_3^- 形式的氮,也能吸收和同化 NH_4^+ 形式的氮,盐分胁迫影响氮素代谢正是从无机氮的吸收水平开始的。盐分显著降低无机氮的吸收(Rush 等,1975)。近年来,关于植物细胞 NO_3^- 和 NH_4^+ 的吸收转运蛋白及其编码基因做了大量工作,但是盐分胁迫的影响有待深入研究。

硝酸还原酶催化 NO_3^- 到 NO_2^- 的还原作用,是植物氮素代谢的关键酶。一般而言,这种酶对所有胁迫都十分敏感,特别是对盐和渗透胁迫。Plant(1974)发现当以 NaCl 溶液处理时,硝酸还原酶活性被抑制。Klyshev 等(1974)报道,豌豆以等渗的 NaCl 和 Na_2SO_4 溶液处理时,可以导致硝酸盐和亚硝酸盐的积累。Sharma 等(1983)证明等渗 NaCl 溶液对小麦硝酸还原酶有抑制作用。然而,也有相反的报道,Heimer 提出,盐分对硝酸还原酶的活性没有作用。另外,Rakova 等(1978)报道,豌豆根中谷氨酸脱氢酶和谷氨酸合成酶的活性都被盐分胁迫抑制。Sharma(1980)以及 Sharma 等(1985)发现小麦在等渗的 PEG 和 NaCl 溶液条件下,在幼苗、分蘖、抽穗和灌浆期,其丙氨酸转氨酶和天冬氨酸转氨酶的活性都增大。可见,盐分对植物氮素的影响与植物的种类、盐分种类、胁迫程度等有关。

一般来说,高盐胁迫抑制蛋白质合成而促进蛋白质分解,导致蛋白质含量降低,而游离氨基酸含量增加。早在 1964 年,前苏联学者 Strogonov 即发现盐分胁迫可以改变可溶性氨基酸和蛋白质之间的平衡。NaCl 对许多植物,例如豌豆、菜豆、大豆和葡萄等的蛋白质合成都有抑制作用。Kahane 等发现盐分胁迫对豌豆蛋白质合成有抑制作用(表 2-10)。盐分胁迫对植物蛋白质合成是促进还是抑制,主要是取决于盐的浓度和植物的种类。Sharma 等(1980)指出,在 -3 bar NaCl 条件下,小麦和棉花蛋白质含量增加,在高浓度 NaCl 浓度条件下,蛋白质含量则下降。

表 2-10 NaCl 对豌豆蛋白 N 积累的效应

器官	(μg/植物器官) 暴露于盐分胁迫的时间/d				
	4	10	17	24	32
叶片	4.589/4.112	5.84/5.278	7.595/5.081	7.906/6.383	8.12/5.058
茎	1.970/1.581	1.970/1.581	2.919/2.188	4.271/2.679	4.825/2.185
根	2.111/1.816	2.706/2.086	2.120/1.832	3.133/1.863	3.345/2.010

注:分子为对照,分母为 NaCl(-4.4 bar)处理的。

关于盐胁迫影响蛋白质含量的原因,既可能发生在转录水平上,也可能发生在翻译水平上;既可能发生在蛋白质分子自身水平上,如分解、修饰、结构及辅助因子调节等。也可能几种情况同时存在,这与植物种类,发育状况,盐处理浓度及时间有关。

生物固氮 豆科植物的生物固氮是把气态氮转化为有机氮的重要方式之一,是一类独特的氮素代谢方式。植物根瘤的形成和作用有 4 个主要阶段:a. 根毛感染;b. 根毛发端;c. 根瘤发育(包括类菌体的形成退化);d. 氮素同化。研究表明,盐分胁迫对对上述 4 个阶段都有显著的影响。Tu(1981)报道,高盐度导致:①降低根瘤菌的增殖和生长;②降低根毛的有效性和易感性,这可能就是盐分胁迫抑制根瘤形成和生长的原因。Garg 等(1984)发现盐分胁迫抑制大豆根瘤的形成和生长(表 2-11)。

表 2-11 盐分胁迫对丛生菜豆和乌头叶菜豆结瘤和固氮的效应(引自 Garg 等,1984)

处理	电导率/dsm^{-1}	瘤数/植株		瘤干重/$mg \cdot 株^{-1}$		固氮酶活性 $mmol/L\ C_2H_4/株 \cdot h^{-1}$		固氮酶比活 $C_2H_4/gdw \cdot h^{-1}$	
		C	M	C	M	C	M	C	M
对照	0	25.5	18.3	83.3	28.7	471.9	54.7	5.66	1.90
NaCl	5	21.5	9.9	72.7	12.0	462.5	32.3	6.36	2.70
	10	17.0	7.3	42.2	9.2	351.9	31.8	7.45	3.44
Na_2SO_4	5	18.7	10.0	79.8	15.4	373.7	21.4	4.68	1.39
	10	15.3	5.2	58.5	5.8	338.5	8.8	5.79	1.53
$NaHCO_3$	5	19.0	8.1	60.9	8.6	309.9	27.0	5.09	3.14
	10	11.0	3.8	37.9	2.5	239.7	10.9	6.33	4.35
LSD%		4.6	4.0	16.8	3.4	69.1	6.3	N.S	0.85

注:C-丛生菜豆;M-乌头叶菜豆。

豆血红蛋白色素保证固氮过程的无氧环境,对固氮作用起着非常重要作用。盐分胁迫对根瘤中的豆血红蛋白色素的形成也有明显的影响,Garg 等(1984)发现生长在高盐分胁迫下的豌豆,所有根瘤中都没有豆血红蛋白色素,而此时较低盐分处理下根瘤是有明显的豆血红蛋白色素(表 2-12)。

固氮酶是植物固氮作用的关键酶。赵可夫等(1992)将沙枣幼苗种植在不同盐度的条件下,发现盐胁迫除对植株高度、根鲜重和根瘤大小有抑制作用外,对沙枣根系结瘤和根瘤固氮酶活性也具有明显的抑制作用(表 2-13)。

表 2-12 盐碱条件对豌豆根瘤中豆血红蛋白色素的效应(引自 Garg 等,1984)

pH	EC/dsm^{-1}							
	3.5	6.5	12.0	18.0	3.5	6.0	12.0	18.0
	豆血红蛋白色素 mg/g 根瘤鲜重				豆血红色蛋白色素 mg/植株			
种植 70 d 后								
7	16.6	12.1	1.5	—	15.4	6.5	0.5	—
9	13.8	10.3	—	—	8.8	3.8	—	—
10	—	—	×	×	—	—	×	×
种植 10 d 后								
7	8.9	5.2	×	×	7.9	2.3	×	×
9	7.1	4.0	×	×	4.2	1.2	×	×
10	—	—	×	×	—	—	×	×

Garg 等(1984)报道,利用 NaCl、Na_2SO_4 和 $NaHCO_3$(5 ~ 10 dsm^{-1})溶液处理乌头叶菜豆,在 10 dsm^{-1} 盐度下其固氮酶的活性显著降低,但根瘤的比活不降低,这说明固氮酶活性的降低是因根瘤数和重量的减少造成的。每单位重量根瘤的固氮效率(比活)不降低,证明根瘤中存在一种内在的补偿机制,它可以使固氮中的不平衡部分得以缓和。

表 2-13 NaCl 对沙枣生长、结瘤和固氮酶活性的效应(引自赵可夫和 Harris,1992)

NaCl/%	高度/cm	根鲜重/ g·植株$^{-1}$	根瘤数/ 个·植株$^{-1}$	根瘤大小/ mm	固氮酶活性/ mmol C_2H_2·g^{-1}DW·h^{-1}
0.0	32	81	10.3	4.3	2.1
0.5	36	85	7.6	3.1	2.3
1.0	26	61	5.3	2.2	2.2
1.5	13	11	0.7	1.6	0.8

核酸代谢 一般情况下,NaCl 对植物核酸代谢是有影响的,是促进还是抑制与植物种类以及盐种类和盐浓度有关。例如 0.8% 的 NaCl 溶液可以增加番茄组织中的 DNA 含量,如果 NaCl 溶液浓度提高到 1.6% 的水平,则对 DNA 和 RNA 的合成将产生抑制作用。

但是,具体到某类 RNA(mRNA,tRNA、rRNA 和 sRNA、micro RNA),特别是编码某种功能蛋白的 mRNA 到底在盐胁迫情况下是增加,还是下降,与植物种类、发育阶段及功能蛋白在抗盐中的作用有关。我们研究盐对盐地碱蓬液泡膜 H^+ - ATPase 各亚基基因表达的影响,对处于不同发育时期的盐地碱蓬植株采用 400 mmol/L NaCl 溶液处理,分别提取根、茎、叶总 RNA 进行 Northern 杂交。结果表明:无论是否盐处理,生长四周的盐地碱蓬植株其根、茎和叶液泡膜 H^+ - ATPase B、H、c 亚基基因表达均高于生长十周的盐地碱蓬植株;无论是生长四周生长旺盛的盐地碱蓬植株还是生长十周处于衰老期的盐地碱蓬植株,其根、茎和叶液泡膜 H^+ - ATPase B、H、c 亚基基因表达均明显受盐诱导,盐地碱蓬液泡膜 H^+ - ATPase 各亚基基因表达存在协同作用(图 2-22)。但一般而言,mRNA 在增加到一定量后就维持一定水平,其他编码盐敏感蛋白的 mRNA 则在盐胁迫后下降。近年来,关于一些小 RNA 在植物抗盐中的作用受到了广泛关注,已成为新的研究热点。

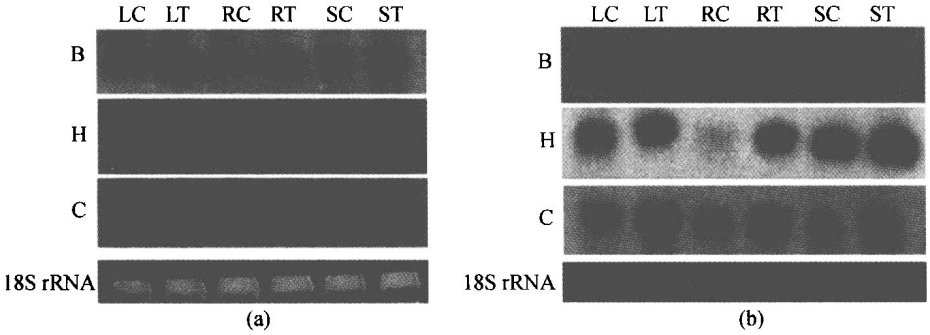


图 2-22 NaCl 处理对生长 4 周(a)、10 周(b)盐地碱蓬(C. 对照;T. NaCl 处理)、叶片(L)、根(R)、茎(S)液泡膜 H^+-ATPase B、H、c 亚基基因表达的影响

(引自李平华,2003)

硫代谢　植物的硫代谢包括 SO_4^{2-} 的吸收、运输、还原成半胱氨酸。一般来说,盐胁迫对植物的硫代谢的各个过程都有影响。NaCl 抑制 SO_4^{2-} 吸收,导致植物体缺 S 现象和阻止进入体内的 SO_4^{2-} 还原成 H_2S 和半胱氨酸(-SH):$SO_4^{2-} \rightarrow SO_3^{2-} \rightarrow H_2S \rightarrow$ 半胱氨酸(-SH)。近年来,关于植物细胞 SO_4^{2-} 的吸收转运蛋白及其编码基因做了大量工作,但是盐分胁迫的影响有待深入研究。

内源激素　近年来大量事实已经证明,植物激素参与植物对盐分胁迫的响应。在盐分胁迫下,植物体内赤霉素、吲哚乙酸、乙烯、细胞分裂素和脱落酸均发生不同程度的变化,但最显著的变化是脱落酸(ABA),所以,ABA 又称**逆境激素**(stress hormone)。总的来看,盐分胁迫下,ABA 含量增加,而赤霉素、吲哚乙酸和细胞分裂素下降。早在 1968 年,Itai 等即发现盐分胁迫可以降低向日葵、棉花和菜豆植物体内细胞分裂素的水平。Mizrahi 等(1972)报道,生长在 NaCl 胁迫下的烟草,植物体内的细胞分裂素水平下降,而脱落酸水平上升,并认为这种变化在植物水分代谢中有重要作用,因为细胞分裂素可以促进气孔开放,而脱落酸则促进气孔关闭。

关于盐胁迫下植物体内 ABA 含量升高和 CTK(细胞分裂素)含量降低同时变化的生理学意义可能与减低生长和代谢把能量更多地用于适应盐胁迫(包括离子区域化和外排等)有关。如果在盐胁迫下 ABA 和 CTK 含量增加和降低的变化在多种植物中都是这样,可以推论:在盐胁迫下通过一定的 CTK/ABA 比来调节植物对胁迫的适应性。

盐等逆境对植物激素代谢的影响,总结于图 2-23。

2.5.4 次生盐害

次生盐害(secondary salt injury)主要是指盐胁迫而引发的氧化胁迫和营养胁迫。有时把有高浓度盐分产生的渗透胁迫也归为次生胁迫,但是越来越多的学者认为高浓度盐分对植物必然同时产生离子和渗透胁迫,而由此引发的氧化胁迫和营养胁迫应为次生胁迫,由次生胁迫引发的伤害为次生盐害。

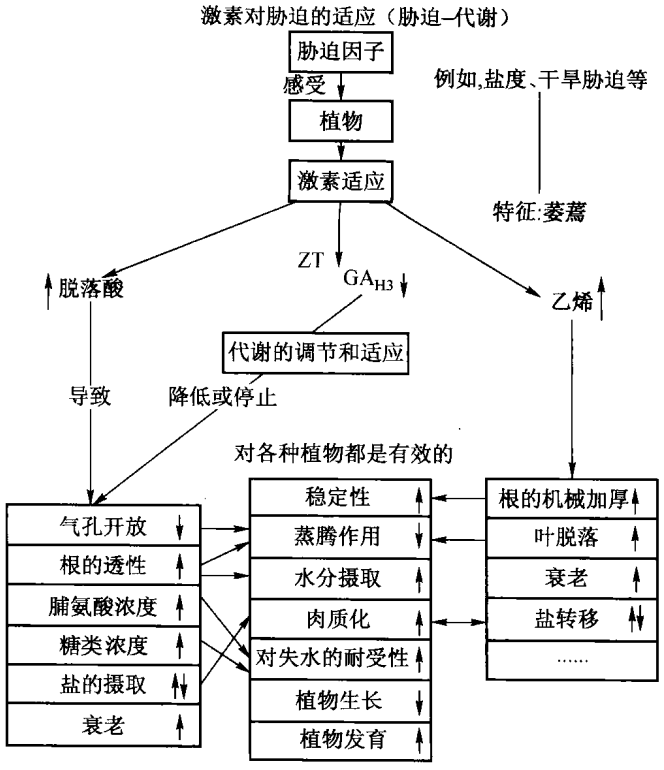


图 2－23　植物对胁迫的激素适应图示

（根据 Breckle,1995 修改）

（1）氧化伤害

当植物遭受到盐胁迫后,植物体内的氧代谢就会失调,活性氧的产生加快,而清除系统的功能降低,致使活性氧在体内积累,ROS 攻击带不饱和双键的生物分子,细胞的结构与功能就会受到损伤,甚至导致死亡,这种由 ROS 积累导致的胁迫为氧化胁迫(oxidative stress),而氧化胁迫导致的伤害为**氧化伤害**(oxidative damage)。有关氧化胁迫和氧化伤害的详细内容见本书 1.3.2。

（2）营养胁迫伤害

主要是由于植物在吸收矿质元素的过程中存在各种营养矿物质的竞争,因此,溶液中某些盐离子浓度(如 Na^+ 和 Cl^- 等)过高,一方面阻止植物对某些必需矿质元素的吸收,造成一些营养离子亏缺(如 K^+ 和 Ca^{2+} 等),另一方面,Na^+ 和 Cl^- 大量进入细胞,破坏细胞中的离子稳态,从而引发营养胁迫及伤害。

Soloev 于 1969 年首先发现西葫芦和白花草木樨(*Melilotus alba*)在受到 NaCl 处理以后,植物的地下部分缺 K^+。将处理后的植株转移到含有 K 的培养液中,则可以恢复正常生长,如果转移到纯水中,则正常生长不能恢复。盐碱地作物喷洒草木灰增产的原因就是减轻盐引起的 K^+ 缺发。此后在菜豆、豌豆和酸橙中,甚至在盐生植物中,也可以发现这种现象。他认为盐分胁迫抑制植物生长,主要是由于 Na^+ 与其他矿物质元素的竞争作用,使植物对另外一些矿物质元素吸收困难,导致某种元素的缺乏形成的。最常见的就是由引起的缺 K^+。当然,盐分胁迫也抑制植物

对 Ca^{2+}、Mg^{2+} 和 P 等元素的吸收和代谢。

必须指出，Na^+ 浓度对 K^+ 的吸收是双重性的，在其处于低浓度时，可以增大 K^+ 的吸收；而在高浓度时，则抑制 K^+ 的吸收。研究发现，在高浓度 Na^+ 中，甘蔗、水稻、小麦的生长和对 Ca^{2+} 的吸收都降低，甚至在相当抗盐的野油菜(*Brassica campestris*)中，在土壤 Na^+ 盐浓度增大时，也伴随着对 Mg^{2+} 和 K^+ 吸收的降低。但是，在海蓬子和盐地碱蓬等盐生植物中，K^+ 的含量开始时是降低的，而降低到一定程度后维持在较高水平，此时生长发育不受影响，也就是说不受盐害。因此，在盐度影响下，植物对 K^+ 吸收降低，并不一定显示出亏缺胁迫。例如无芒虎尾草，当施用的 Na^+ 的水平增大时，其对 K^+ 的吸收伴随着其最大生长需要的 K 的降低而减少，因为在盐生植物中 Na^+ 至少能够在一定程度上取代 K^+。我们的研究结果表明 NaCl 处理后，盐地碱蓬高亲和 K^+ 吸收系统的 K_m 降低，而 V_{max} 没有明显变化，说明 NaCl 处理可以诱导盐地碱蓬高亲和 K 吸收系统构象改变，增大对 K^+ 的亲和力，保证植物体 K^+ 的需求(表 2-14)。

表 2-14 NaCl 处理对盐地碱蓬高亲和 K^+ 吸收系统动力学参数的影响(引自周峰，2003)

	NaCl/mmol · L^{-1}		
	1	100	400
K_m(μmol/L)	22.1	14.87	14.10
V_{max}(μmol · g^{-1}DW · h^{-1})	28.67	28.85	29.27

2.5.5 盐对生长发育的影响

高盐胁迫会对植物生长发育的各个阶段产生不同程度影响。当外界盐度超过植物的生长极限盐度时，植物质膜透性、各种生理生化过程和植物营养状况受到不同程度的伤害，最后使植物的生长发育受到不同程度的抑制，抑制程度的大小，与盐分胁迫强弱和暴露于盐分中的时间长短以及植物的种类、发育阶段等有关。一般说，对同一种植物而言，盐分胁迫愈强，暴露于盐分胁迫下的时间愈长，植物生长发育受到抑制的程度愈大。即：

盐分抑制程度 = 盐分胁迫大小 × 时间 × P

公式中的 P 代表不同植物对盐分胁迫的响应系数，即抑制效应。

一般而言，盐分胁迫使植物生长发育周期缩短，生物量和经济产量下降，如盐碱地上生长的小麦和玉米等。而真盐生植物则相反，其生长发育需要一定盐分，甚至没有一定盐分不能正常开花结果，如沙枣等。但是，真盐生植物的生长发育需要一定盐分的机理尚不清楚。

(1) 种子萌发

一般而言，无论是盐生植物还是非盐生植物种子萌发阶段对盐都是敏感的。早在 1952 年，Ayers 就发现盐分胁迫可以抑制大麦和小麦种子的萌发。我们用耐盐小麦品种和盐敏感小麦品种进一步研究了盐分胁迫抑制小麦种子的萌发的生理机制。结果表明 1% NaCl 溶液处理后两个品种小麦种子发芽率、发芽指数和活力指数均明显下降，盐敏感品种下降幅度明显大于耐盐品种，外源 GA 对 NaCl 处理下发芽率和发芽指数有显著恢复作用，而 ABA 处理对活力指数也有显著恢复作用(图 2-24)。

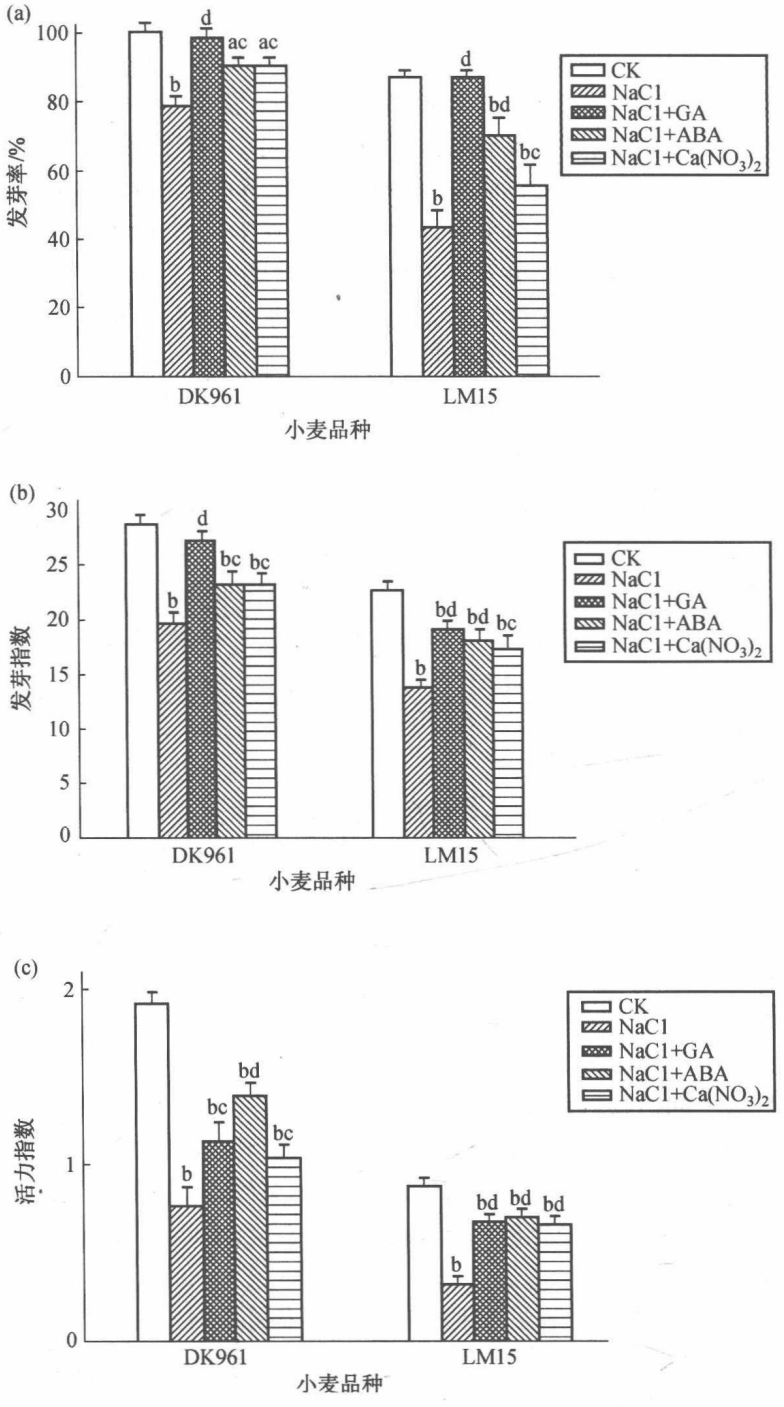


图 2－24　外源 GA_3、ABA 和 $Ca(NO_3)_2$ 处理对盐胁迫下小麦种子的发芽率(a)、发芽指数(b)和活力指数(c)的缓解作用

DK961 为耐盐品，LM15 为盐敏感品种。（引自蔡蕾等，2004）

进一步研究发现,NaCl 溶液处理抑制小麦种萌发的原因主要是抑制了内源 GA 合成,使 GA 含量下降(图 2-25),导致 α-淀粉酶活性降低(图 2-26)。而外源 GA、$Ca(NO_3)_2$、ABA 处理缓解 NaCl 溶液处理对小麦种子萌发的抑制作用则是通过提高内源 GA 含量及 α-淀粉酶活性实现的(图 2-25;图 2-26)。

盐胁迫对大部分盐生植物种子萌发也有抑制作用,盐生植物一般都具有一定的抗盐能力,但其种子的萌发在淡水中最好,在盐溶液中则受到抑制,其原因可能与盐生植物种子中不含盐分有关。由于其含盐很少,其渗透势当然较高,在低水势盐溶液中就很难获得萌发所需的足够水分(图 2-27)。

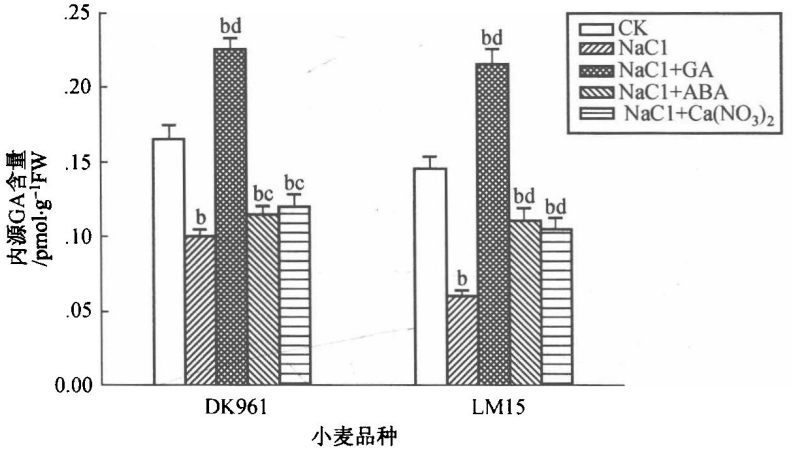
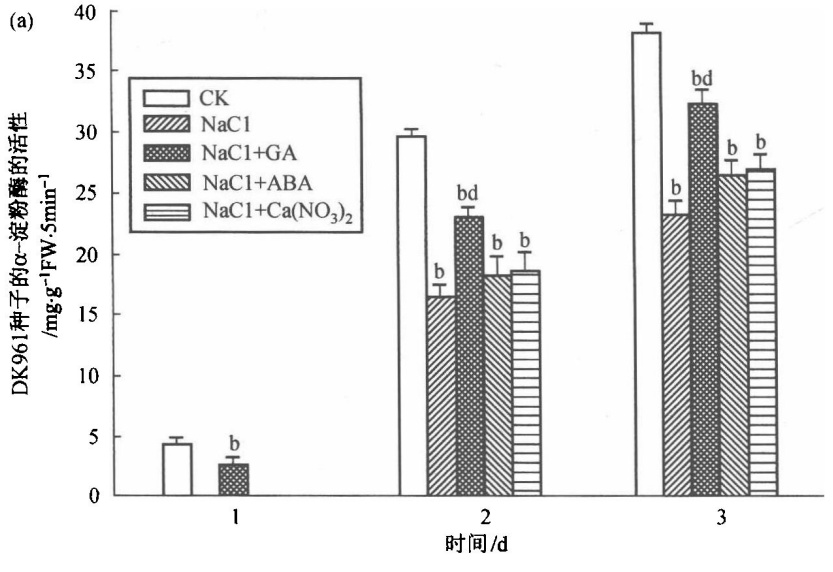


图 2-25 各种处理下种子内源 GA_{1+3} 含量的变化

DK961 为耐盐品,LM15 为盐敏感品种。(引自蔡蕾等,2004)



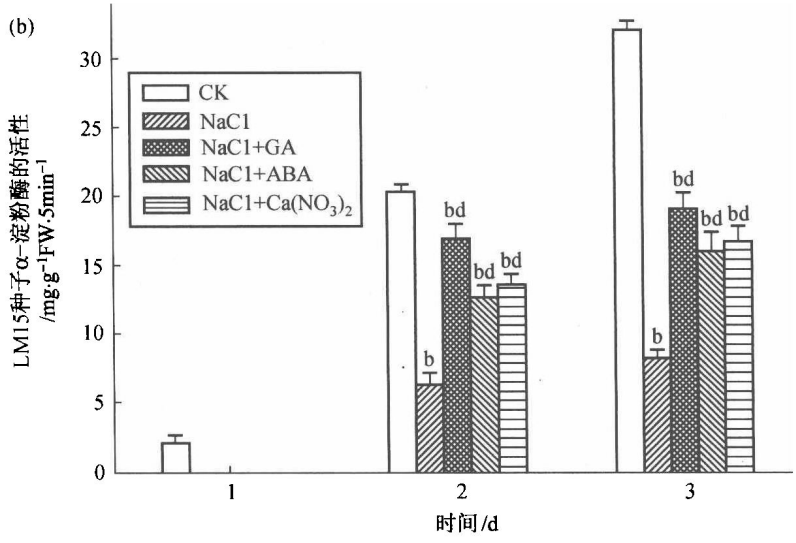


图 2-26　外源 GA_3、ABA 和 $Ca(NO_3)_2$ 处理对盐胁迫下 DK961(a)和 LM15(b)种子 α-淀粉酶活性的影响。

DK961 为耐盐品种,LM15 为盐敏感品种。(引自蔡蕾等,2004)

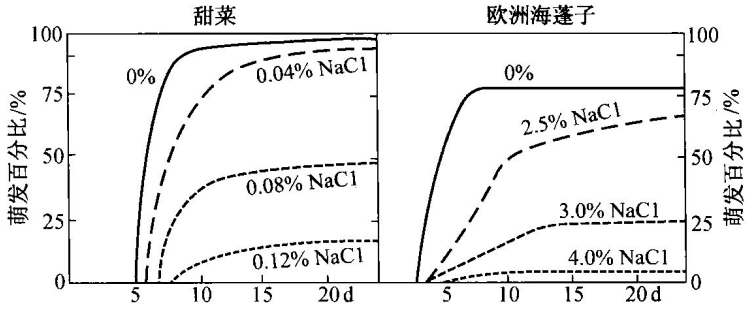


图 2-27　盐度对甜菜和欧洲海蓬子萌发的效应

(改自 Ayers,1952)

盐渍环境中,种子能否正常萌发对此后该物种在某一地区的繁衍和生存至关重要。大多数盐生植物的种子都位于土壤表面,而土壤表面的盐分往往可以达到土壤深层的 100 倍(Ungar,1978)。许多盐生植物的种子通过休眠避开不良环境,只有当种子的内外环境适宜才开始萌发。当两种耐盐性很高的盐生植物盐角草(*Salicornia europaea*)和碱蓬(*Suaeda calceoliformis*)种子在高盐溶液中处理 30~730 d 后,种子不仅没有丧失萌发能力,未萌发种子的恢复率反而高于对照(Keiffer 和 Ungar,1997)。因此,盐生植物种子在高盐溶液条件下不萌发,可以保证种子库中具有一定数量具有萌发力的种子,当环境条件适宜时,这些未萌发的种子才开始萌发,这是盐生植物适应盐渍环境的重要机制。

Na^+ 和 Cl^- 在盐角草(*S. pacifica*)种皮中的相对含量远高于胚(Khan 等,1985)。盐生植物囊果碱蓬(*S. physophora*)和梭梭(*Haloxylon ammodendron*)干种子、种皮和胚,尤其是种皮中 Na^+ 明显高于旱生植物白梭梭(*H. persicum*),而且种皮 Na^+ 浓度与胚 Na^+ 浓度的比率也是囊果碱蓬最高,白梭梭最低(表 2-15)。盐生植物,特别是真盐生植物能将大量 Na^+ 或 Cl^- 区域化在液泡中,

以避免因细胞质中过高的 Na^+ 或 Cl^- 浓度干扰代谢过程(Greeway 和 Munns,1980)。真盐生植物囊果碱蓬在种子形成中在种皮中对 Na^+ 进行区隔化的能力大于旱生盐生植物梭梭,而旱生植物白梭梭区隔化能力最小。说明,在种子形成过程中,由于囊果碱蓬生境土壤盐分高,囊果碱蓬将 Na^+ 区隔化于种皮中,有利于保护胚不受太多 Na^+ 等离子的伤害(Song 等,2005)。

表 2-15 白梭梭、梭梭和囊果碱蓬干种子、种皮、胚中 Na^+ 含量以及 Na^+ 在种皮/Na^+ 在胚中比率

植物	Na^+ 含量/mmol·g^{-1}DW			种皮 Na^+/胚 Na^+ 比率
	干种子	种皮	胚	
白梭梭 *H. persicum*	0.12 c	0.38 c	0.15 c	2.50 c
梭梭 *H. ammodondron*	0.80 b	1.14 b	0.23 b	6.14 b
囊果碱蓬 *S. physophora*	1.17 a	5.50 a	0.56 a	9.82 a

同一列中平均数后面的不同字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。(引自 Song 等,2005)

研究发现,一些盐生植物的种皮不仅可以在种子发育过程中对 Na^+ 等有害离子起到区隔化作用,种皮在种子萌发过程中还能阻挡盐溶液中 Na^+ 等进入以及 K^+ 等营养离子的外渗,对高盐溶液中萌发的种子具有保护作用,例如囊果碱蓬和梭梭(图 2-28)(Song 等,2007)。

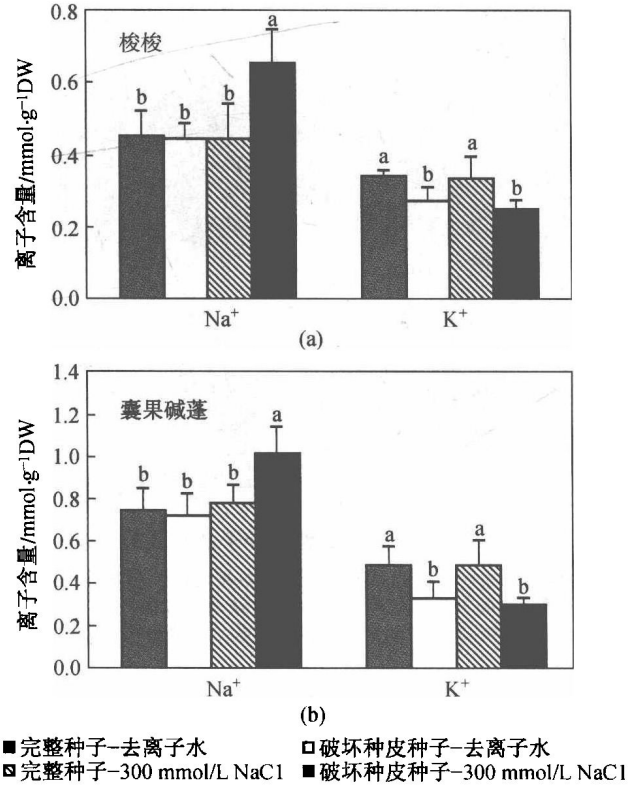


图 2-28 梭梭(a)和囊果碱蓬(b)完整和破坏种皮后种子的胚中 Na^+ 和 K^+ 含量的变化

同一离子平均数上面不同字母表示在 $P=0.05$ 差异显著。(引自 Song 等,2007)

植物种子的二型性(多型性)是指在同一棵植株上生长有形态结构、生理、生态学特性等方

面有很大差异的两种(多型)种子。这种现象在自然界中比较普遍,特别是菊科、藜科、禾本科、十字花科中最为常见。二型性种子产生的比例受环境因素的影响,例如水、盐、养分和密度胁迫等。具有二型性种子的植物一般出现在干旱、沙漠、盐渍土地区,一般为旱生、盐生植物。我国干旱、半干旱地区面积广阔,有大面积沙漠和盐渍土,有着丰富的旱生、盐生植物资源,应该有许多具有二型性种子的植物,而这些旱生、盐生植物许多具有潜在的经济和生态修复的利用价值。广泛分布于我国黄河三角洲潮间带和内陆重盐碱地的盐地碱蓬产生二型种子(Song 等,2008)。研究表明,两种生境盐地碱蓬的棕色种子均重于黑色种子(表 2-16),并且发育较黑色种子完全(图 2-29,另见彩插)。潮间带生境盐地碱蓬棕色种子/黑色种子的比率远高于盐碱地生境盐地碱蓬(表 2-16),并且潮间带棕色种子在高盐环境下的成苗率较高(图 2-30)。这些特征可能是影响盐地碱蓬在不同盐渍生境下自然分布的因素(Song 等,2008)。

表 2-16 潮间带和内陆盐碱地生境盐地碱蓬种子重量和棕色种子/黑色种子比率

生境	棕色种子/黑色种子比率	百粒重/g	
		棕色种子	黑色种子
潮间带	4.2 a	0.21 a	0.11 a
内陆盐碱地	2.3 b	0.05 b	0.02 b

同一指标平均数后面字母不同表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。(引自 Song 等,2008)

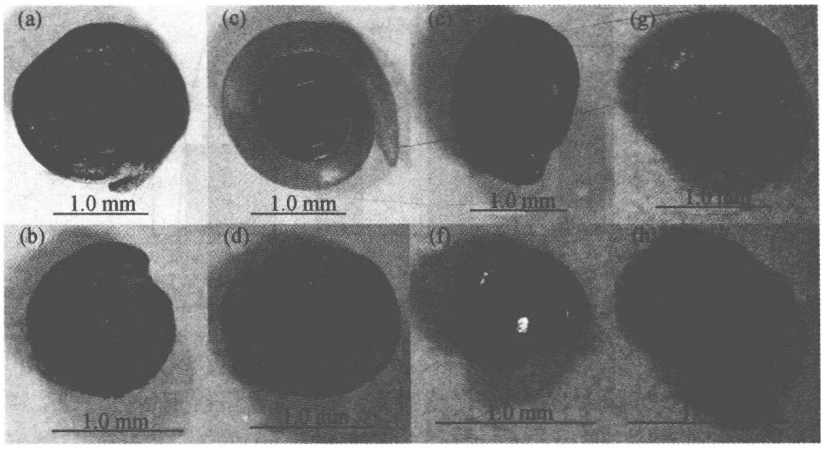


图 2-29 盐地碱蓬二型性种子及其胚的形态

潮间带生境盐地碱蓬棕色种子(a),盐碱地生境棕色种子(b),潮间带生境棕色种子胚(c)盐碱地生境棕色种子胚(d),潮间带生境黑色种子(e),盐碱地生境黑色种子(f),潮间带生境黑色种子胚(g)盐碱地生境黑色种子胚(h)的形态。(引自 Song 等,2008)

某些被子植物的胚中含有叶绿素。子叶的光合作用能为萌发过程中种子的代谢提供 O_2 和能量(Weber 等,2005)。Rolletschek 等(2003)报道蚕豆(*Vicia faba*)成熟过程中的子叶光合放出的 O_2 可以达到大气 O_2 浓度的 50% 左右。我国西北干旱区重盐碱地上分布的囊果碱蓬干种子子叶中含有叶绿素(图 2-31,另见彩插),种子吸水后能光合放 O_2,说明囊果碱蓬种子在适宜的条件下(积雪融化或降雨后土壤盐分较低时)只要种子萌发,子叶就能进行光合作用,使其在环境条件有利的情况下迅速完成幼苗的建成(Li 等,2008)。

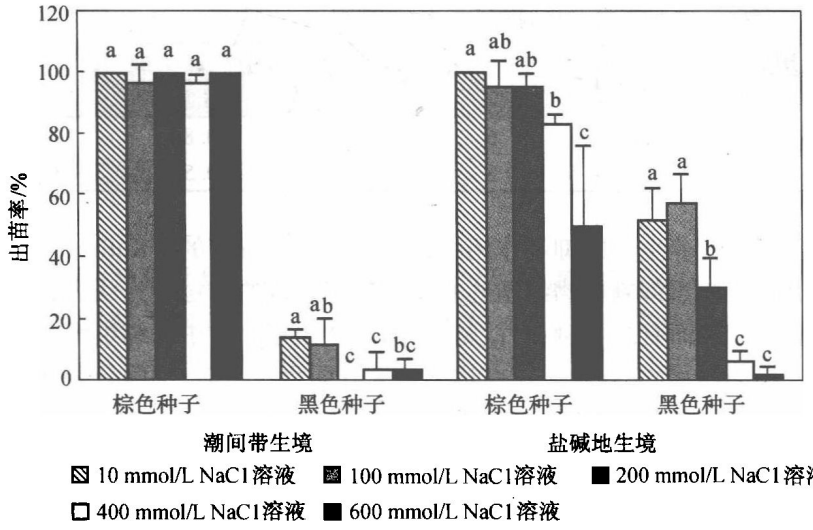
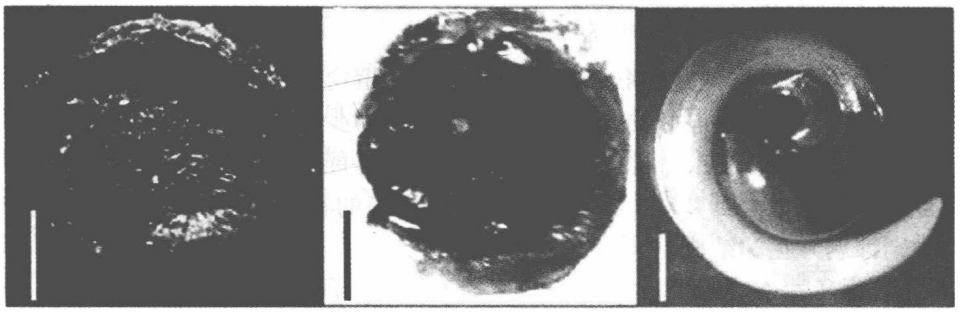


图 2-30 潮间带和盐碱地生境二态型种子在不同盐分浓度处理 20 d 后的出苗率

同一生境棕色或黑色种子平均数上不同字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。(引自 Song 等,2008)



(a) (b) (c)

图 2-31 囊果碱蓬干种子(a),干种子胚(b)以及萌发过程中的胚(c)的形态

标尺 = 1 mm。(引自 Li 等,2008)

盐对种子萌发的抑制到底是因低水势还是盐离子直接作用,目前尚有争论,但在高盐浓度下至少一部分原因是因种子吸水困难而阻止种子萌发。

(2) 生长

盐分对植物的最普通和最显著的效应就是抑制生长,表现为植株矮小和产量降低。植物为了生存,它必须与其生长环境保持一种平衡状态,当生长在高盐溶液土壤中,植物一方面要应付渗透胁迫,另一方面还要进行离子调节。即要通过额外吸收一定量的矿物质元素和合成一定量的可溶性的有机物质,增大细胞质的浓度,降低水势,使细胞水势低于外界生境的水势,才能保持植物细胞正常吸水;另一方面,要限制某些有害离子吸收,同时把进入细胞的有害离子区域化到液泡或外排出体外。所有这些过程都要消耗能量,当然,植物生长所需的能量将会减少,生长就必然降低。Strogonov 等(1964)很早就发现这个事实,他将玉米种植在 NaCl(-4.5×10^5 Pa)和无 NaCl 条件下,发现 NaCl 对玉米叶片数、地上部分鲜重和干重、根系鲜重和干重都有明显的降低作用(表 2-17)。

表 2-17 NaCl 处理对玉米生长的效应(引自 Strogonov 等,1964)

处理	渗透压/bar($\times 10^5$ Pa)	高度/cm	叶数	地上部分重/g		根重/g	
				鲜重	干重	鲜重	干重
对照	0.5	58	6	6.8	0.85	4.4	0.44
NaCl	4.5	48	5	5.2	0.54	3.8	0.39

盐分对非盐生植物营养生长的抑制作用的途径可能是多方面的。Kulirva(1975)认为盐分对非盐生植物营养生长是通过抑制植物细胞的有丝分裂来实现的。也有人认为是通过抑制细胞增大实现的。也可能二者兼而有之。例如,盐胁迫下,由于菜豆叶片中海绵组织厚度增大和栅栏组织变薄造成叶片生长抑制,因为叶片生长在达到最大叶面积一半时,细胞分裂即停止。其后的叶面积进一步增大,是由于海绵组织体积增大引起的。当然,一旦细胞分裂停止,盐分对植物营养生长的抑制作用主要通过抑制细胞生长和光合作用等过程,最终导致植物矮小和生物量降低。

关于盐胁迫抑制植物生长的机理,Munns 等做了一系列的研究,她认为盐分对植物的短期抑制来自根系,由水分胁迫产生。而盐分胁迫的长期抑制是盐离子在叶片中的积累,抑制细胞生长和光合作用等过程及使老叶不断死亡造成的。显然,盐胁迫抑制植物生长的机理不是这样简单,特别是细胞的分裂等就更为复杂,需要进一步深入探讨。

(3) 发育

通常发育是指生殖器官诱导和形成的过程。盐分对植物发育也具有显著的影响。

对非盐生植物而言,盐胁迫对发育一般是有害的,但对少数植物有益。例如,NaCl 胁迫对水稻和桃树的开花具有延迟效应,对桃树的果实还可催熟,并能促进落叶。有趣的是,利用 50% 海水灌溉棉花,当含盐量增大到 $2\ 500 \times 10^{-6}$ g/mL 时,棉花的花数和棉桃数都增多,但到 $5\ 000 \times 10^{-6}$ g/mL 时则抑制开花和结桃。

对盐生植物而言,一定程度的盐处理对发育是有益的。例如盐生植物沙枣(*Elaeagnus angustifolia*)在盐渍生境中能够正常开花和结果,如果生长于甜土(无盐)中,只开花不结果。另外,盐生植物海蓬子(*Salicornia herbacea*)和猪毛菜(*Salsol soda*)生长在有 NaCl 的条件下可能正常开花结果,生长于无 NaCl 条件下,大部分不能开花,只有个别个体在较晚时间开了一部分花,而且形成的种子发育也不充分。

另外,盐分也影响果实的品质。大部分果树在盐碱地上产量低,品质差。但是,冬枣(*Ziziphus jujuba*)在盐碱地上产量高,品质也最好。

其次,盐分还影响泌盐植物盐腺和盐囊泡的发育(见本书 2.4.2)。

2.6 植物抗盐的生理机制

2.6.1 抗盐性

所谓抗盐性(salt resistance),即指该植物对盐度的适应性。适应性的强弱即植物抗盐性的大小。一般地说,盐生植物都生长在较高浓度含盐量的环境中,并且能正常完成生活史,抗盐性高。盐生植物都是抗盐的,在其生长发育过程中需要一定的盐分,但外界环境中的盐分高于或低于其生长最适浓度,盐生植物的生长发育也会受到不同程度的影响。从不同盐生植物生长的最

适盐度,可以衡量其抗盐能力的大小,生长最适盐度高的盐生植物,其抗盐能力较大,生长最适盐度低的,其抗盐能力较小。而非盐生植物是盐敏感的,在其生长发育过程中受到盐分的抑制,抗盐能力差。

2.6.2 植物的耐盐阈值

(1) 概念

所谓植物生长的**极限盐度**(limiting salinity),也称**盐度阈值**(salinity threshold),其含义是植物生长在该盐度范围内,50% 以上的植物能正常生长,超过该盐度时,则 50% 以上的植物其生长受到抑制,产量下降,这一盐度即为该种植物的极限盐度,即植物正常生长的外界最大盐度范围,一般用溶液电导率表示。

显然,植物种类不同、发育阶段不同、盐处理方式不同、植物生长的环境不同等都会导致同种植物的极限盐度不一样。这也是不同文献报道的非盐生植物的极限盐度数值很不一致,甚至差距很大的原因。这些原因有:①测定盐分胁迫和植物胁变的方法和标准不统一;②植物生长的极限盐度随环境条件和植物发育阶段的不同而变化,植物幼苗阶段和开花阶段的极限盐度也是不同的;③植物生长的极限盐度随其生长在盐分胁迫下的时间长短不同而异,在相同盐度下,时间愈长,植物受到抑制的程度愈大,其生长的极限盐度就低,相反亦然;④同一种植物在不同湿度、温度和光照条件下,其极限盐度是不同的,一般来讲,湿度越低、温度和光照越高,盐度阈值越小。所以,建立国际统一的评价植物盐度阈值的标准具有重要的实践意义。

(2) 常见植物生长的极限盐度

关于常见植物生长的极限盐度,需说明的一点是:文献报道的极限盐度,多半是利用溶液培养在实验条件下得到的,与植物生长在自然盐渍环境中的极限盐度相比,还存在一定的差异,所以这种极限盐度不能完全代表植物在自然界的生长极限盐度。自然界的土壤含盐量随季节、降雨和地表蒸发等会发生很大变化。一种植物能否在盐碱地上完成生活史最终决定于对土壤含盐量最高时耐受值,而与通常分析的极限盐度关系不大。尽管如此,表 2-18 中所介绍的一些非盐生植物的极限盐度,仍有一定的参考价值,可以相对地反映这些植物的生长环境的盐度范围,作为指导盐碱地农业的参考。

从表 2-18 中可以看出,不同植物具有不同的生长极限盐度。从表中的几类作物中,以果树的生长极限盐度最小;在大田作物中,菜豆的生长极限盐度最小,蚕豆、玉米、大豆等次之,大麦、棉花最大。生长极限盐度大的抗盐,小的不抗盐。另外,生长极限盐度大的植物,在超过极限盐度时,每超过 1 dsm^{-1} 时,产量降低的数值最少,反之亦然。

表 2-18 一些作物的生长极限盐度和超过极限盐度后产量降低(引自 Sharma 等,1986)

植物种类	极限盐度/ dsm^{-1}	每超过极限盐度 1 dsm^{-1} 时产量的降低百分比/%	抗盐水平
1. 大田作物			
大麦(*Hordeum vulgare*)	8.0	5.0	T
菜豆(*Phaseolus vulgaris*)	1.0	19.0	S
蚕豆(*Vicia faba*)	1.6	9.6	MS
玉米(*Zea mays*)	1.7	12.0	MS

续表

植物种类	极限盐度/ dsm^{-1}	每超过极限盐度 1 dsm^{-1} 时产量的降低百分比/%	抗盐水平
棉花(*Gossypium hirsutum*)	7.7	5.2	T
豇豆(*Vigna unguiculata*)	1.3	14.0	MS
亚麻(*Linum usitatitissimum*)	1.7	12.0	MS
水稻(*Oryza sativa*)	3.0	12.0	MS
红花(*Carthamus tinctorious*)	—	—	MT
田菁(*Sesbania exaltaia*)	2.3	7.0	MS
高粱(*Sorghum bicolor*)	—	—	MT
大豆(*Glycine max*)	5.0	20.0	MS
甘蔗(*Saccharum officinarum*)	1.7	5.9	MS
向日葵(*Helianthus annuus*)	—	—	MS
小麦(*Triticum aestivum*)	6.0	7.1	MT
2. 饲料作物			
紫苜蓿(*Medicago sativa*)	2.0	7.3	MS
饲用大麦(*Hordeum vulgare*)	6.0	7.1	MT
狗牙根(*Cynodon dactylon*)	6.9	6.4	T
埃及车轴草(*Trifolium alexandrinum*)	1.5	5.7	MS
西伯利亚冰草(*Agropyron sibiricum*)	3.5	4.0	MT
3. 蔬菜植物			
菜豆(*Phaseolus vulgaris*)	1.0	19.0	S
甘蓝(*Brassica olercea*)	1.8	14.0	S
胡萝卜(*Daucus carota*)	1.0	14.0	S
花椰菜(*Brassica oleracea* var. *botrytis*)	—	—	MS
秋葵(*Abelmoschus esculentus*)	—	—	S
洋葱(*Allium cepa*)	1.2	16.0	S
豌豆(*Pisum sativum*)	—	—	S
马铃薯(*Solanum tuberosum*)	1.7	12.0	MS
萝卜(*Raphanus sativus*)	1.2	13.0	MS
菠菜(*Spinacia oleracea*)	2.0	7.6	MS
番茄(*Lycopersicon lycopersicum*)	2.5	9.9	MS
4. 果树			
杏(*Prunus armeniaca*)	1.6	24.0	S
苹果(*Malus sylvestris*)	—	—	S
蒲桃(*Syzygium jambos*)	—	—	S
扁桃(*Prunus duclis*)	1.5	19.0	S
鳄梨(*Persea americana*)	—	—	S
番木瓜(*Carica papaya*)	—	—	S
洋梨(*Pyrus communis*)	—	—	S
草莓属(*Fragaria* sp.)	1.0	33.0	S

注:1 dsm^{-1} = 0.06% NaCl = 0.01 mol/L NaCl;T:耐盐;S:盐敏感,MS:中等盐敏感;MT:中等耐盐。

2.6.3 影响植物抗盐性的因子

影响植物抗盐性的因子包括内因和环境因子。前者主要是植物种类和品种，而后者主要包括盐分种类、温度和光照等。

(1) 内因

植物种类和品种　植物种类不同其抗盐能力也不同，这是决定植物抗盐性的根本因素。最典型的例子就是盐生植物和非盐生植物，前者某些种类可以在海水中完成生活史，如大米草等。从表 2-18 中可以看出某些作物种类之间抗盐能力的差异。同一作物不同品种，其抗盐能力也存在差异，有的品种抗盐，有的品种不抗盐，甚至相差很大。例如鲁棉 1 号棉花的抗盐能力大于中棉 10 号，德抗 961 小麦的抗盐能力大于鲁麦 15 号小麦。

发育阶段　植物抗盐性的大小是由植物的遗传性决定的，但是植物的不同发育阶段抗盐性也不同。一般地说，植物在种子萌发阶段和幼苗期的抗盐能力都比较小。例如，番茄和棉花的幼苗期，其抗盐能力比较小，在孕蕾期其抗盐能力就大一些，到开花期抗盐能力又降低。水稻的抗盐能力的变化规律类似番茄和棉花，水稻种子萌发后随发育的进程对盐的敏感性逐渐降低，即抗盐能力逐渐增大。而大麦种子萌发阶段抗盐能力大于幼苗期。

(2) 外因

总的来看，外因主要通过影响植物对盐的吸收、运输和积累而影响植物抗盐性。一般而言，除了不同盐分的影响外，其他环境因素，凡是促进盐分吸收、运输和积累的因素会降低植物抗盐性，反之亦然。

不同盐分的影响　植物的抗盐能力与盐的种类密切相关，不同盐类对植物产生的毒性是不同的。一般而言，钾盐毒性大于钠盐；碱性盐大于中性盐；在相同阳离子情况下，F^- 毒性最大，如 NaF 毒性远远大于 NaCl，其次是 HCO_3^-，毒性较小的为 Cl^-。从表 2-19 可以看出，不同盐类对每种植物的毒性是不同的，例如玉米，Na_2CO_3 对其毒性最大，其次是 NaCl，毒性最小的则是 $MgSO_4$；而不同盐类对小麦的毒性则不同，$MgSO_4$ 的毒性最大，NaCl 毒性最小。

表 2-19　各种盐类对不同植物的毒性

等级	白羽扇豆	苜蓿	小麦	玉米	蜀黍	燕麦	棉花	甜菜
1	$MgSO_4$	$MgSO_4$	$MgSO_4$	Na_2CO_3	$MgCl_2$	$MgSO_4$	$MgSO_4$	$MgSO_4$
2	$MgSO_4$	$MgSO_4$	$MgSO_4$	Na_2CO_3	$MgCl_2$	$MgSO_4$	$MgSO_4$	$MgCl_2$
3	$MgCl_2$	$MgCl_2$	$MgCl_2$	NaCl	$MgSO_4$	$MgCl_2$	$MgCl_2$	$MgCl_2$
4	Na_2CO_3	Na_2CO_3	Na_2CO_3	$NaHCO_3$	Na_2CO_3	Na_2CO_3	Na_2CO_3	Na_2CO_3
5	$MgSO_4$	NaCl	Na_2SO_4	$MgCl_2$	Na_2SO_4	Na_2SO_4	NaCl	Na_2SO_4
6	NaCl	$NaHCO_3$	NaCl	$MgSO_4$	NaCl	NaCl		NaCl

温度的影响　温度几乎是所有环境中普遍存在的一个因子，温度除了直接地影响着植物对盐分的吸收、运输和分配外，主要通过影响植物对水分的吸收、运输和蒸腾而影响盐分的吸收和运输。因此，温度对植物的抗盐性有明显的影响。大多数情况下，高温促进盐分的吸收、运输和积累而降低植物抗盐性，而低温可以增大植物的抗盐能力。许多蔬菜植物生长在温度较高的条件下，所受到的盐害往往要比生长在温度较低条件下的大就是这个原因。例如，甜菜在 25 ~

40 ℃温度下则同样浓度的盐分可以明显抑制甜菜种子萌发,而低温时盐度则对它没有效应。

辐射的影响　辐射对植物抗盐性的影响,一般规律是高强度辐射可以降低植物的抗盐能力,低强度辐射可以提高植物的抗盐能力。例如菜豆生长在不同日照强度下,其净光合作用强度只有在高强度辐射水平时才减少,产生盐害作用,在800勒克斯以下则对菜豆净光合作用强度没作用,这说明低辐射时,菜豆的抗盐能力是高的。在棉花也得到类似的结果,辐射强度愈高,净光合作用愈小,盐害愈大,说明此时棉花最不抗盐。光照对植物抗盐性的影响是复杂的,低强度可以提高植物的抗盐能力,一方面低强度光照下植物对盐分的吸收、运输和蒸腾都低,植物积累的盐分少;另一方面产生的ROS也少,氧化胁迫低。而高光强减低植物的抗盐能力,原因是一方面高光强促进植物对盐分的吸收、运输和蒸腾,植物积累的盐分高;另一方面产生的ROS多,也会产生氧化胁迫。

CO_2的影响　CO_2是植物光合作用的原料,是植物新陈代谢中不可缺少的物质之一。空气中的CO_2体积分数为3×10^{-4}左右,如果适当提高CO_2体积分数,不但可以提高植物的净光合作用,而且可以降低菜豆的盐害,相对提高植物的抗盐能力。如CO_2体积分数为4×10^{-4}时,盐处理的菜豆的净光合作用强度已接近对照水平。说明盐胁迫条件下,CO_2供应不足是光合作用下降的主要原因。从这个角度上讲,盐碱地大棚可以用干冰提高蔬菜的抗盐能力,增加产量。

空气湿度的影响　一般情况下,高湿度导致植物蒸腾作用的降低,从而减少盐分吸收、运输和积累,从而提高植物抗盐性。另外,在湿润的条件下,植物的鲜/干比率将会增大,从而减少植物体内电解质的浓度,使植物避免盐害。例如,菜豆生长在盐渍化条件下,其生长可以随大气湿度的增大而增大。其他环境条件相同的情况下,相对湿度低,蒸腾作用强,吸收和运输到地上部分的盐就多,产生的盐害就大,植物抗盐性就降低,反之亦然。

2.6.4　对盐胁迫引发的渗透胁迫的抗性及机理

(1) 渗透调节

土壤溶液中高浓度盐对植物会产生渗透胁迫。渗透胁迫引起的主要胁变是细胞脱水。植物要适应这种胁迫,必须能忍耐脱水。植物忍耐脱水主要有两种方式:①避脱水;②耐脱水。耐脱水指的是植物在脱水后失去膨压时仍能存活的特性。在这种情况下,植物只能维持其存活状态,如果时间延长,即会引起植物死亡。因此,耐脱水在农业生产中意义不大,除非脱水时间短造成的胁变可恢复。所谓避脱水,是指植物采取某种措施(结构上的或生理功能上的)使植物在渗透胁迫下不发生脱水,或者在短期内恢复膨压,重新生长,其中最有效的措施就是植物细胞的渗透调节。

所谓渗透调节,是指植物生长在渗透胁迫条件下,其细胞中相容性溶质(compatible solutes)的主动净增过程。相容性溶质净增加的结果,细胞液浓度增加,渗透势降低,使其在低渗透势生境中能够吸收水分,这种过程即渗透调节(osmotic adjustment)。渗透调节不同于在实验上或生理上的一些维持膨压的方法,例如一些微生物降低细胞的含水量,减小细胞体积等,因为这些方法都不需要额外溶质,但这种也称为渗透调节(osmoregulation),适用于低等植物或微生物。

(2) 渗透调节的方式及能力

渗透调节方式　植物用于渗透调节的溶质主要有无机离子和某些小分子相容性溶质。所以,植物的渗透调节方式有两种方式:①吸收和积累无机盐;②合成有机物。但是这两种方式不是截然分开,而是同时并存的,只是某些植物以吸收和积累无机盐为主,而另一些植物以合成有

机物为主。

一些盐生植物,特别是专性盐生植物,例如盐地碱蓬、海蓬子、滨藜等,在盐胁迫下,主要依靠从外界吸收和积累无机盐离子,进行渗透调节,增加细胞溶质浓度,降低细胞渗透势,从而避免脱水,防止盐害。

植物吸收和积累无机离子种类多种多样,随植物种类不同而异,主要有 Na^+、K^+ 和 Cl^-,其次是 Ca^{2+}、SO_4^{2-}、Mg^{2+}、NO_3^- 等。植物对无机盐的吸收,是一个涉及通道、载体和泵等各种膜转运蛋白过程,有些是通过通道的扩散过程,大多数是通过载体和泵的主动转运过程。在小麦和燕麦中,这种吸收和积累与质膜和液泡膜上质子泵(质膜、液泡膜 H^+ - ATP 酶和液泡膜 H^+ - 焦磷酸酶)活性大小有关,活性大,吸收和积累在细胞中的盐离子就多。盐离子进入细胞以后,主要积累在液泡中,这样一方面避免了过高离子浓度对细胞质代谢的干扰,另一方面又降低了细胞渗透势。在这种情况下,植物细胞不但可以避免脱水,而且可以在高浓度盐的土壤溶液中吸收水分,而细胞质必须保持离子稳态。

在盐渍条件下,植物细胞吸收和积累大量盐离子,使细胞液中盐离子浓度达到很高水平,如盐地碱蓬在采用 400 mmol/L NaCl 溶液处理 3 周后,叶片细胞液中的 Na^+ 浓度达到 700 mmol/L 左右。这种高浓度离子对细胞代谢将产生一系列的胁迫作用,那么这类植物如何适应这种高浓度离子胁迫?

研究表明,某些嗜盐细菌,例如盐细菌(*Halobacterium* sp.),其酶蛋白具有独特的性质,它们在植物体内对盐分非常不敏感,而且只有在高浓度盐溶液中它才具有活性,其 NADH 脱氢酶在低盐离子浓度中不稳定,在完全无盐溶液中没有活性,只有在高浓度盐溶液中才具有最大活性。Mevareck 等根据热力学原理提出,在 0.15 mol/L 盐浓度时,盐可以遮蔽细胞中一些亚基的固有电荷,但在 0.85 mol/L 以上的盐浓度时,它可以稳定亚基之间疏水基团的相互作用,从而使酶活性增大。这种疏水力量与上述亲盐酶蛋白的特性具有重大关系。

可是,大量研究表明,高等植物无论是盐生植物还是非盐生植物细胞质酶都丧失了原核嗜盐细菌酶活对高盐的依赖性,而表现为对盐分非常敏感,只需要高浓度 K^+。越来越多的事实表明盐离子进入细胞以后,主要积累在液泡中,同时细胞质合成并积累如甜菜碱等小分子相容性溶质,这样一方面避免了过高离子浓度对细胞质代谢酶的干扰,同时对酶还有保护作用。另一方面又降低了细胞渗透势,使细胞仍可吸水。

其次,细胞膨压的变化直接调节一些膨压依赖性的离子通道打开吸收离子,也可以被细胞质膜上的蛋白激酶所感受,引发相应信号转导,激活质子泵和离子转运体,从而引起离子吸收和积累。有关盐胁迫下植物吸收、转运和积累无机盐离子的详细机理参考 2.6.5。

植物在抗盐中,除了吸收和积累大量的无机盐离子进行渗透调节适应盐渍环境外,还在细胞中合成大量不同的有机物质(表 1-2)。由于盐生植物和非盐生植物细胞质酶和蛋白质合成系统都对盐分特别敏感,植物吸入的盐分多数贮存在液泡中。液泡中盐分增多以后,必然对细胞质产生渗透胁迫,故在细胞质中要合成一些可溶性的有机物质以抵消液泡的渗透势,所以植物合成有机物主要是调节细胞质的渗透势,使其与液泡渗透势相等。在细胞质中合成可溶性的有机物质一定要对各种代谢没有任何毒性,特别是在高浓度下。已经证明高浓度的脯氨酸(Stewart 和 Lee,1974)和各种甜菜碱(Pollard 和 Jones,1979)对一些酶类不单没有任何抑制作用,而且还有保护作用。正因为如此,高等植物(盐生植物和非盐生植物)在盐渍条件下,可以积累大量的脯氨

酸和各种甜碱作为渗透调节物质。但在一些单细胞藻类(如杜氏盐藻)等则以合成甘油等多元醇作为渗透调节物质。

合成脯氨酸　植物在盐渍等逆境中可以合成大量的脯氨酸。多年来,许多生理学家对正常和胁迫条件下脯氨酸在植物体内的生物合成,脯氨酸合成的调节,脯氨酸在植物抗盐中的作用等进行了大量的工作。

在正常情况下,植物体内脯氨酸合成途径有二:谷氨酸途径;鸟氨酸途径(图 2 - 32)。

植物在盐渍等逆境条件下,细胞大量积累脯氨酸的机理如下:①NaCl 阻止氨基酸的氧化,导致细胞质中脯氨酸的积累。脯氨酸合成酶吡咯啉 - 5 - 羧酸还原酶对 NaCl 有一定的抗性,在一定浓度 NaCl 条件下,其活性不受影响,与此相反,脯氨酸氧化酶对 NaCl 十分敏感,其活性很容易受到 NaCl 的抑制,结果在一定的盐渍环境中,导致细胞质中脯氨酸的合成保持相对稳定,而氧化分解受到抑制,结果导致细胞质中脯氨酸的积累;②在 NaCl 胁迫下,线粒体膜透性变化有利于合成而不利于分解,导致细胞质中脯氨酸的积累。细胞中脯氨酸合成和分解中的酶类分别存在于细胞的不同部位,脯氨酸合成酶位于细胞质,脯氨酸分解酶位于线粒体,显然脯氨酸贮存在细胞质中。这两类酶的遗传基因在染色体组中也是分开的。在正常情况下,细胞质中的脯氨酸很容易通过线粒体膜进入线粒体,在线粒体中被氧化成吡咯啉 - 5 - 羧酸、丙酮等。在 NaCl 胁迫条件下,线粒体膜的透性发生变化。细胞质中的脯氨酸不能穿过线粒体膜而进入线粒体,但线粒体中脯氨酸前体——吡咯啉 - 5 - 羧酸,仍然可以穿过线粒体膜而进入细胞质中,供合成脯氨酸用,结果导致细胞质中脯氨酸增多。关于植物在盐胁迫下细胞中脯氨酸的代谢调节,可以用图 2 - 33 表示。总体可以用"开源节流"来表述盐等逆境下植物细胞中脯氨酸的代谢调节,即有利于脯氨酸生成的过程被促进,有利于脯氨酸分解或减少的过程被抑制。

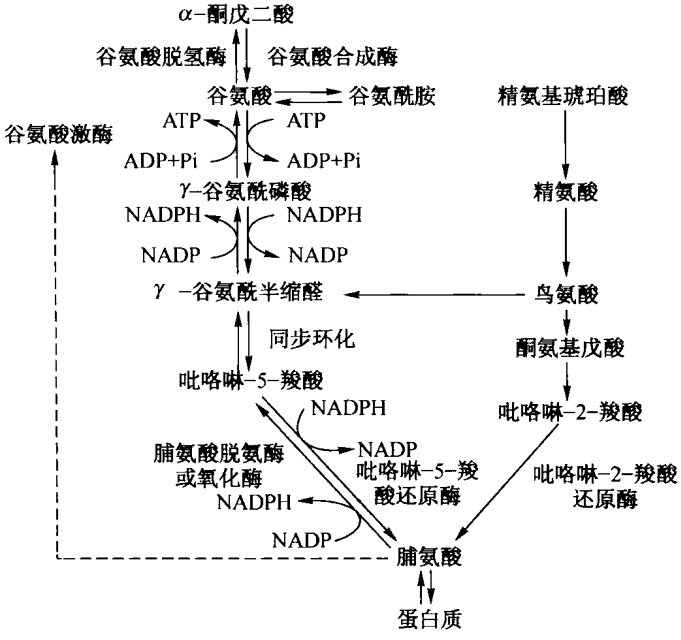


图 2 - 32　植物体内脯氨酸生物合成的途径

(引自 Hansen 和 Hitz,1982)

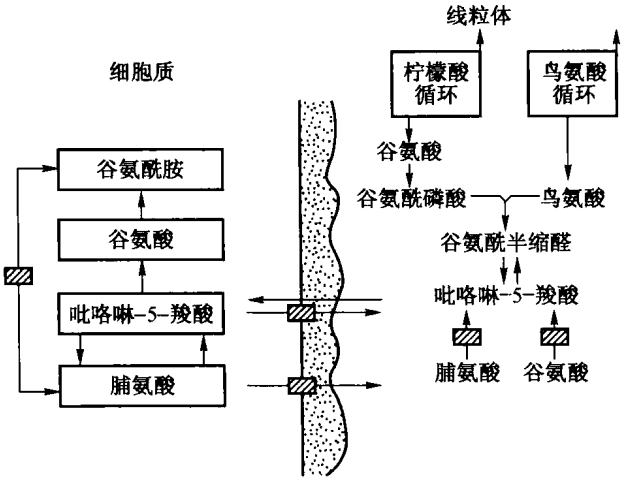


图 2-33 脯氨酸代谢途径在细胞中的定位及其在盐胁迫下的调节

(引自赵可夫,1993)

关于线粒体膜通透性发生变化的机理,有人认为是 NaCl 对线粒体膜脂组成或膜电位影响所致。也有人认为与 NaCl 抑制氨基酸运输与膜电位的去极化作用以及与吸收氨基酸消耗能量有关。具体原因有待深入研究。

③ 蛋白质合成和氧化受阻以及脯氨酸合成加强;导致细胞质中脯氨酸的积累。Ruhl 等(1983)利用^{14}C-谷氨酸处理大麦叶片,证明脯氨酸合成被促进、脯氨酸的氧化分解受到抑制、脯氨酸参与蛋白质合成减少(图 2-34)。

④ ABA 的影响。Poljakoff-Mayber(1982)提出,在盐渍条件下,植物细胞大量积累脯氨酸,ABA 也起着重要作用。在植物细胞脱水后水势降低时,细胞中 ABA 的浓度也大大提高,可达 0.15 μg/g 叶片。在 ABA 增长的同时,细胞中脯氨酸的含量也增大。Huber 用 ABA 和 NaCl 溶液处理狼尾草(*Rennisetum typhoides*)的种子,二者都可以促进吡咯啉-5-羧酸还原酶的活性,促进细胞中脯氨酸的合成。ABA 也可以通过 ABA 依赖的信号传导途径调节脯氨酸代谢途径有关酶的基因,而影响细胞质中脯氨酸的积累。

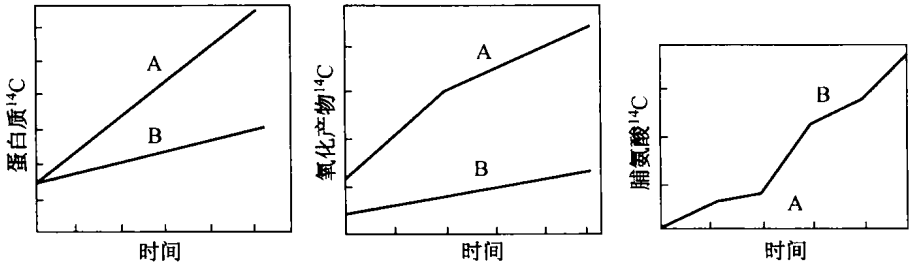


图 2-34 在 NaCl 存在的条件下脯氨酸掺入蛋白质(a)、脯氨酸氧化(b)及脯氨酸的合成的情况(c)

A—对照;B—NaCl 处理。(引自赵可夫,1993)

关于脯氨酸在抗盐胁迫中的作用,近年来有许多报道,主要有以下几种看法:①在盐胁迫下,脯氨酸在植物体内是一种重要的渗透调节剂,它是一些高等植物和绿藻抗盐和抗旱的渗透调节

剂之一;②脯氨酸可以保护细胞中的生物大分子的结构,使之不被 NaCl 破坏,并能维持其完整的水合状态;③脯氨酸可能在植物生长发育过程起重要作用;④在盐胁迫条件下,植物叶绿素的合成受到抑制,叶绿素的合成需要脯氨酸。

合成甜菜碱　一部分植物在盐渍条件下,不合成甘油,也不合成脯氨酸,而合成大量的甜菜碱。一般情况下,一些盐生植物的地上部分甜菜碱的含量较高。但一些非盐生植物,特别是对盐敏感的作物,如小麦和水稻等,一般不合成甜菜碱。所以,近年来,利用基因工程措施把甜菜碱合成关键基因导入小麦和水稻等提高其耐盐性取得了一定进展。

甜菜碱是某些植物体内合成的一种季胺类化合物。它在很大的生理 pH 范围内呈电中性,虽然极易溶于水但却含有一个非极性的由三个甲基组成的碳氢基团。甜菜碱的这种分子特性使其既具极性,又有非极性,使其既能与生物大分子,如酶和蛋白质复合物的亲水区结合,又能与其疏水区结合,这对其发挥其渗透调节和保护功能具有重要意义。实验表明,甜菜碱不仅是一种渗透调节物质,在植物受到环境胁迫时在细胞内积累降低渗透势,它还能作为一种保护物质维持生物大分子的结构和完整性,维持其正常的生理功能。

甜菜碱在植物体内主要存在形式有甘氨酸甜菜碱、β-丙氨酸甜菜碱和脯氨酸甜菜碱三种,大部分情况下以甘氨酸甜菜碱形式存在,所以甘氨酸甜菜碱通常也简称甜菜碱,而且后两种形式前体物也是甘氨酸甜菜碱。所以,甜菜碱的生物合成途径是关键的。关于甜菜碱生物合成途径有以下几种(图 2-35)。

在已知的生物系统中,甜菜碱主要通过两种不同的途径由不同的底物合成:一种是由胆碱合成甜菜碱,这种途径广泛存在于各种生物体中,它需要一种或两种酶催化(图 2-35A_1,A_2,A_3)。其中两种酶催化的途径最为普遍,动植物和微生物中都存在这种途径。在这种途径中,甜菜碱是由胆碱经过有毒的中间产物甜菜碱醛氧化而成。在植物中,胆碱到甜菜碱醛的转化由胆碱单氧化酶(choline monooxygenase,CMO)催化,而甜菜碱醛到甜菜碱的转化则由甜菜碱醛脱氢酶(betaine aldehyde dehydrogenase,BADH)催化,即 CMO/BADH 途径(图 2-35A_1)。CMO 和 BADH 都定位于叶绿体的基质中,且这两种酶都受水分胁迫诱导。而在动物细胞和一些细菌,如大肠杆菌中,甜菜碱的合成由膜结合的胆碱脱氢酶(choline dehydrogenase,CDH)和 BADH 共同催化而成,即 CDH/BADH 途径(图 2-35A_2)。一酶途径迄今为止仅发现存在于一种特异的土壤微生物球形节杆菌(*Arthrobater globiformis*)中,催化胆碱到甜菜碱合成的酶是胆碱氧化酶(choline oxidase,COD)(图 2-35A_3)。另一种甜菜碱合成底物是甘氨酸。这种途径仅存在于两种嗜盐微生物(*Ectothiorhodospira halochloris* 和 *Actinopolyspora* sp.)中。在这两种微生物中,甜菜碱是由甘氨酸经过三步连续的 N-甲基化而合成,反应由两种 S-腺苷甲硫氨酸依赖型的甲基转移酶,即甘氨酸 S-腺苷甲硫氨酸甲基转移酶(glycine-S-adenosylmethionine methyltransferylase,GSMT)和 S-腺苷甲硫氨酸二甲基转移酶(glycine S-adenosylmethionine dimethyltransferylase:SDTMT)催化完成(图 2-35B)。

近年来的研究表明,甜菜碱除了具有渗透调节作用外,对逆境条件下气孔运动、生物膜及蛋白质、呼吸作用和相关基因表达都有一定的调控作用。

合成甘油　Borowitzka 等的研究表明,植物在盐渍条件下合成甘油的途径有二:①在光合作用中合成;②在糖代谢中合成。因而认为甘油合成与二羟丙酮还原酶和二羟丙酮激酶有关,前者在光合作用中催化合成甘油反应,后者催化二羟丙酮磷酸化。绿藻中的杜氏藻属(*Dunaliella*)植

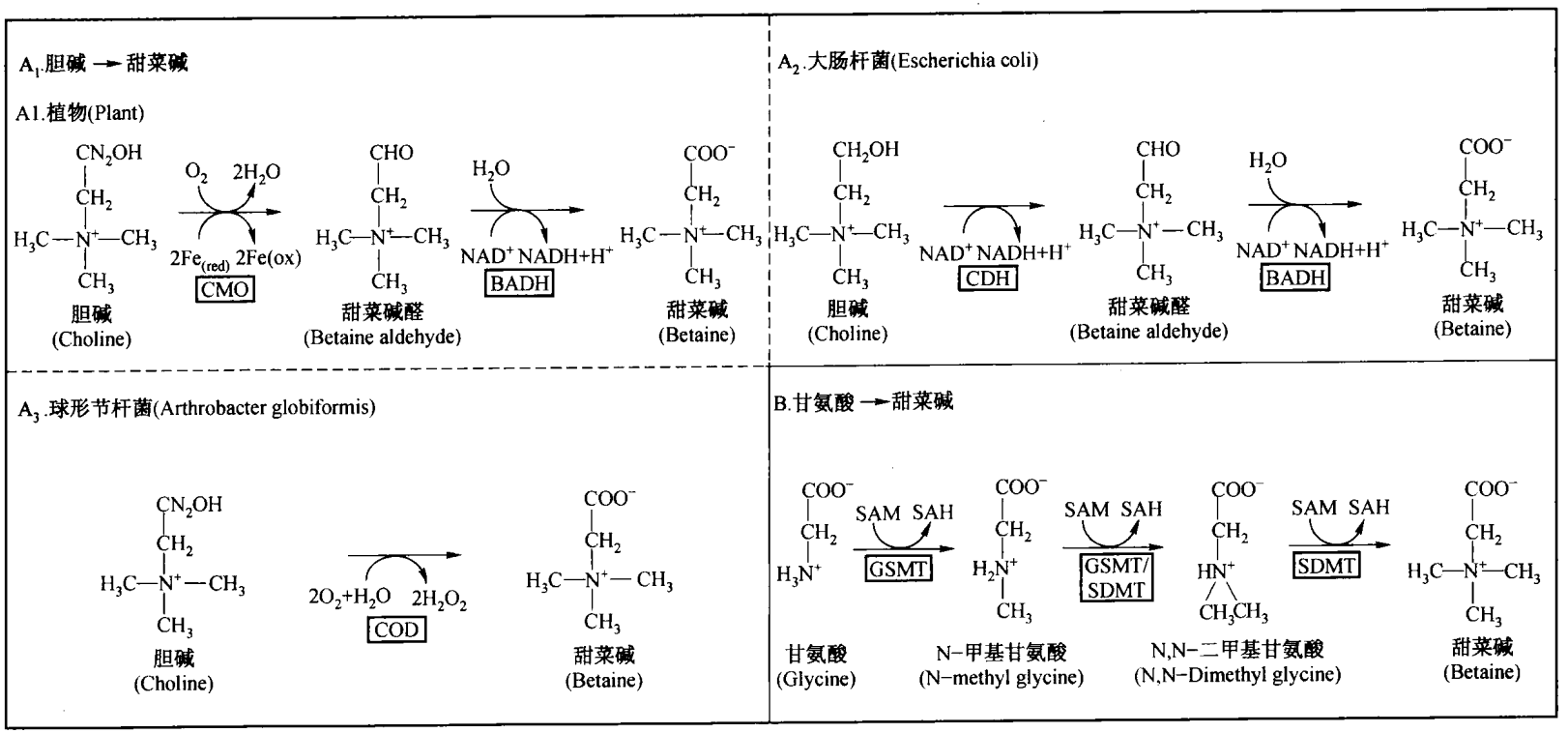


图 2-35　甜菜碱生物合成途径

胆碱单氧化酶(choline monooxygenase:CMO);甜菜碱醛脱氢酶(betaine aldehyde dehydrogenase:BADH);胆碱脱氢酶(choline dehydrogenase:CDH);胆碱氧化酶(choline oxidase:COD);甘氨酸S-腺苷甲硫氨酸甲基转移酶(glycine-S-adenosylmethionine methyltransferylase:GSMT);S-腺苷甲硫氨酸二甲基转移酶(glycine S-adenosylmethionine dimethyltransferylase:SDTMT)。

物是在光合作用中催化合成甘油进行渗透调节的典型例子。杜氏藻对盐分引起的渗透胁迫的渗透调节主要依靠在细胞中合成甘油。杜氏藻在低浓度 NaCl 环境中,其光合作用主要合成乳酸、氨基酸和碳水化合物,在高浓度 NaCl 环境中,则主要合成甘油,同化的 90% CO_2 变为甘油。合成甘油的数量与培养基中的盐浓度有关,生长在 1.36 mol/L NaCl 的环境中,则细胞中的甘油浓度为 1.4 mol/L,在 4.25 mol/L NaCl 的环境中,则细胞中甘油浓度可以增加到 4.4 mol/L。在高浓度 NaCl 下积累大量甘油,一方面作为渗透调节溶质进行渗透调节,另一方面对细胞膜和代谢酶等具有重要保护作用。而且胁迫解除后可以作为碳源用于生命活动。因此,可以杜氏藻在高浓度 NaCl 中大量积累甘油的特性,利用海水培养杜氏藻来生产甘油。

合成棉子糖族寡糖(raffinose,RFOs)棉子糖族寡糖由通过 α-1,6-糖苷键连接到蔗糖分子上的半乳糖单位组成[即 α-1,6-(半乳糖)$_n$-蔗糖;$1 \leqslant n <$ 大约 7],是植物界最为广泛存在的寡糖。肌醇半乳糖苷,即 O-α-D-吡喃半乳糖-(1→1)-L-肌醇,是棉籽糖族寡糖(RFOs)合成的前体。植物中肌醇半乳糖苷是在肌醇半乳糖合酶(GolS,EC 2.3.1.23)催化下,由 UDP-半乳糖和肌醇合成而来,即:UDP-Gal + 肌醇→肌糖半乳糖苷 + UDP。棉籽糖族寡糖的合成涉及一系列半乳糖基转移酶的连续反应。棉籽糖、水苏糖的合成是将肌醇半乳糖苷中半乳糖基分别转移到蔗糖、棉籽糖上而形成的,这些可逆反应分别由棉籽糖合成酶(RafS EC2.4.1.82)和水苏糖合成酶(STS EC2.4.1.67)催化完成:(a)肌糖半乳糖苷 + SUC→棉籽糖 + 肌醇(EC 2.4.1.82),(b)肌糖半乳糖苷 + 棉籽糖→水苏糖 + 肌醇(EC 2.4.1.67)。肌醇半乳糖苷的半乳糖基进一步转移到水苏糖而生成毛蕊花糖,这一反应可能是由双功能的水苏糖合成酶或非常类似的毛蕊花糖合成酶催化的。其酶促作用机理为乒乓反应机理,在第一个半反应中,半乳糖基从肌醇半乳糖苷转移到酶上,形成酶-半乳糖中间复合物:

$$\text{肌糖半乳糖苷} + E \leftrightarrow \text{肌醇} + [E-Gal] \tag{2-1}$$

第二个半反应中,半乳糖基或者转移给棉籽糖(水苏糖合成酶活性)或者转移给水苏糖(毛蕊花糖合成酶活性):

$$[E-Gal] + \text{棉籽糖} \leftrightarrow E + \text{水苏糖} \tag{2-2}$$

$$[E-Gal] + \text{水苏糖} \leftrightarrow E + \text{毛蕊花糖} \tag{2-3}$$

所有半反应都是可逆的且在单一的活性位点进行,因此,半反应(2-2)和半反应(2-3)可组合成一完整的催化循环,以水苏糖为唯一的底物产生毛蕊花糖和棉籽糖:

$$\text{水苏糖} + \text{水苏糖} \leftrightarrow \text{棉籽糖} + \text{毛蕊花糖} \tag{2-4}$$

除了依赖于肌醇半乳糖苷的合成途径以外,一种不依赖于肌醇半乳糖苷的酶也从 *Ajuga reptans* 叶中鉴定出来,它催化一个 RFO 分子末端的半乳糖基到另一个 RFO 分子的转移反应,当这种酶与水苏糖一起保温时,会产生毛蕊花糖和棉籽糖,这为反应(2-4)的存在提供了实验证据,这可能也是长链 RFO(聚合度 DP>4)合成的又一模式。跟果聚糖生物合成途径中的果糖基转移酶类似,暂且将催化反应(4)的酶命名为半乳聚糖:半乳聚糖半乳糖基转移酶(GGT),与 RFO 合成中的其他酶不同,GGT 最适 pH 为酸性,且专门定位在液泡中,而依赖于肌醇半乳糖苷的转移酶存在于细胞质中且最适 pH 为中性。*Coleus blumei* 叶子中也检测到 GGT 酶活性,但至今种子中尚未发现这种酶活性。

其他有机化合物的合成　作为渗透调节剂的有机化合物,除脯氨酸、甘油和甜菜碱外,还有甘露醇、松醇和有机酸和可溶性糖等,合成何种有机渗透调节剂,随植物种类不同而异。甘露醇

的生物合成由 6 - 磷酸葡萄糖在磷酸甘露糖异构酶作用下生成 1 - 磷酸甘露醇，后者在磷酸酶的催化下生成甘露醇(图 2 - 36)。伞形科的芹菜等植物在干旱和盐碱条件下主要合成并积累甘露醇作为渗透调节物质。

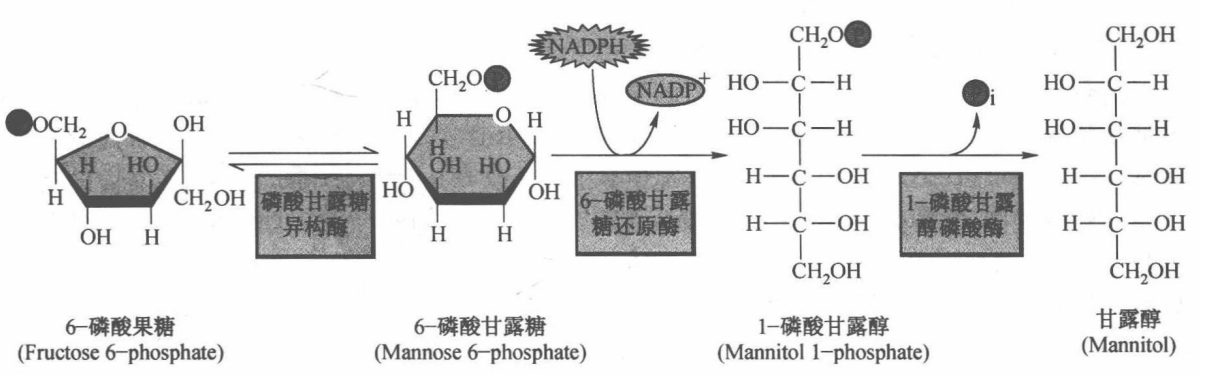


图 2 - 36 甘露醇的生物合成途径

磷酸 - 甘露糖异构酶(phospho-mannose isomerase)；甘露糖 - 6 - 磷酸还原酶(mannose-6-phosphate reductase)；甘露醇 - 6 - 磷酸磷酸酶(mannitol-6-phosphate phosphatase)。(引自 Buchanan 等，2000)

松醇是松柏类植物、豆科植物和许多盐生植物主要的渗透调节物质之一。如冰叶日中花采用 400 mmol/L NaCl 溶液处理后，70% 的可溶性碳水化合物为松醇(pinitol)，而对照只有 4%，松醇定位于叶绿体中，而细胞质和液泡中则无。松醇的生物合成由 6 - 磷酸葡萄糖经 1 - 磷酸肌醇生成松醇(图 2 - 37)。

渗透调节的能力　植物细胞渗透势的下降可以是由于细胞失水和体积减小而造成的溶质浓缩，也可以是细胞内溶质的净增加。后者才是一种主动的渗透调节过程。用植物材料相对含水量的对数为横坐标，以渗透势的对数为纵坐标作图，其相关的直线是否有折点，或转折点所示的渗透势分别表示了有无渗透调节能力和能力的大小(参考本书图 3.1.7)。

Ludlow 等提出用 $\Delta\pi_{100} = \Delta\pi^{u}_{100} - \Delta\pi^{s}_{100}$ 表示渗透调节能力及大小，式中 π^{u}_{100} 为未受胁迫植物材料充分膨胀时的渗透势，π^{s}_{100} 为受胁迫植物材料充分膨胀时的渗透势，两者差值 $\Delta\pi_{100}$ 为渗透调节能力。但是 $\Delta\pi_{100}$ 不全是因为溶质积累而造成的，也有失水造成的结果。Ludlow 等用下面等式来表示上述两种作用。

含水量变化的作用：由于 $\Delta\pi_{100}$ 的变化并非全是由于渗透调节物质的积累所造成，也有细胞失水的结果，因此 Ludlow 等用下面两式表示净溶质积累的作用和细胞失水的作用：

细胞失水的作用：

$$\pi^{u}_{100} \times \frac{(TW/DW)^{u}_{100} - 1}{(TW/DW)^{s}_{100} - 1} - \pi^{u}_{100}$$

式中 TW 为饱和鲜重，D 为干重。

溶质增加的作用：$\Delta\pi^{sa}_{100} = \Delta\pi_{100} - \Delta\pi^{td}_{100}$

上述判断渗透调节能力及其大小的方法关键在于要准确地测定植物器官、组织或细胞的水势、渗透势和压力势，目前测定的方法和仪器是多种多样的，如压力室、渗透压计等，要根据研究对象作适当的选择(参考本书 3.3.3)。也有学者用对照和处理组织渗透势差来简单表示该植物的渗透调节能力。

(3) 渗透调节中的能耗分析

由以上分析可见,植物要适应高盐环境必须进行渗透调节,一种是通过吸收和积累无机离子,另一种是通过合成和积累小分子有机物质,那么哪一种更为经济,即消耗的能量更少呢? 从能耗的角度来说,达到同样的渗透调节目的消耗的能量越少,对植物生存越有利,可能抗盐性就越强。

一般情况下,生长在盐胁迫下植物矮小。虽然盐生植物生长在较高盐度下,可以正常生长和发育,而且一定盐处理后,显著促进其生长,但其生长量和有机物质的增长率大多小于同类的非盐生植物。产生这种现象的根本原因之一,乃是盐胁迫下植物能量代谢特点决定的。

输入能量、输出能量、基本能耗、运行能耗和维持能耗　很显然,植物本身的能量水平由两个因素决定,即输入能量和输出能量水平,二者之差即植物实有的能量水平,植物实有能量水平 = 输入能量 - 输出能量。植物的输出能量,也可称之为**能耗**(energy cost)。植物的能耗可分为三种:**基本能耗**(capital cost)、**运行能耗**(operational cost)和**维持能耗**(maintenance cost)。所谓基本能耗是指植物器官建成消耗之营养物质所折成的能量值以及器官建成过程中所消耗能量的总和。运行能耗是指植物进行正常生理功能所消耗的能量。维持能耗是维持生命活动或生存所消耗的能量。从能耗的分类角度来看,这三种能耗的界限是清楚的,但事实上它们是相互交叉的,很难通过实验手段将它们分清楚。

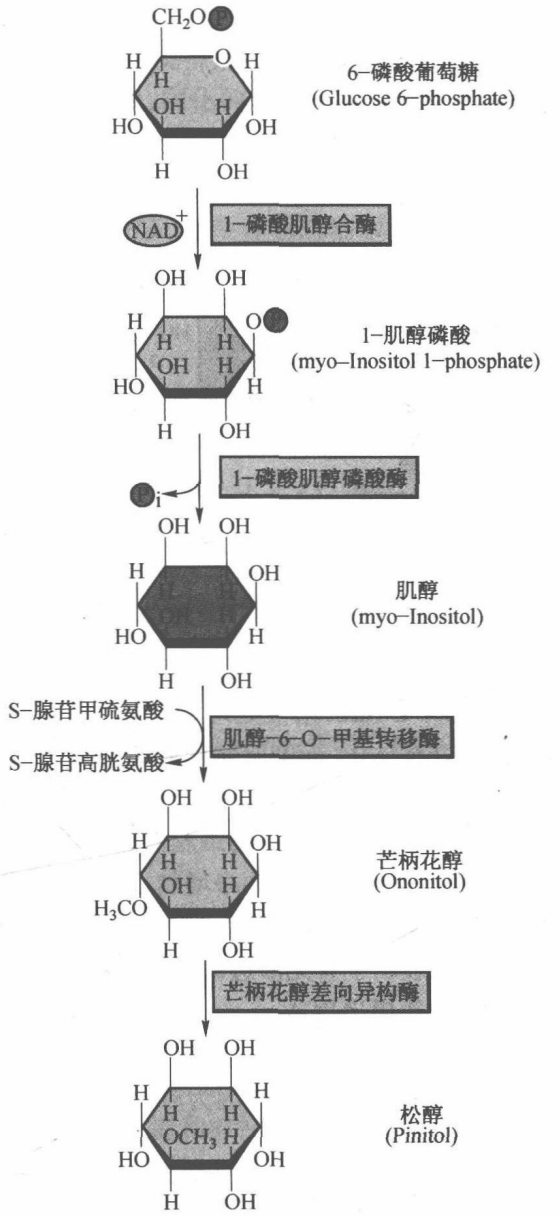


图 2-37　松醇的生物合成途径

1-磷酸肌醇合酶(myo-inositol-1-phosphate synthase);1-磷酸肌醇磷酸酶(myo-inositol-1-phosphate phosphatase);肌醇 6-O-甲基转移酶(myo-inositol 6-O-methyltransferase);芒柄花醇差向异构酶(ononitol epimerase)。(引自 Buchanan 等,2000)

盐胁迫下植物渗透调节中的能耗分析　生长在盐胁迫下的植物,其生长量减少的原因,从能量代谢角度分析,主要原因:①输入能量减少;②输出能量增加,即能耗增大,特别是维持能耗的增大。输入能量减少,光合作用下降,有机碳减少,造成生长量降低。维持能耗增大,呼吸、渗透调节等耗能增加,导致用于器官建成的基本能耗减少,结果也导致植物生长量的降低。

渗透调节能耗　即细胞中渗透调物质的净增加所需能量。盐胁迫下,植物细胞进行渗透调节,一般通过两种形式:①吸收、积累和区域化一些无机离子,例如 Na^+、K^+、Cl^-、Mg^{2+} 等;②合成和积

累一些小分子的无毒有机物质,如脯氨酸、甜菜碱、甘油、有机酸、可溶性糖等。在盐生植物中,这两种形式都存在。必须指出的是,一些植物以吸收和积累无机物作为主要的渗透调节剂,另一些植物以合成和积累有机物作为主要的渗透调节剂。例如盐地碱蓬、海蓬子属的植物,其渗透调节剂主要是无机离子 Na^+、Cl^- 等,与此同时,在盐胁迫下,其细胞中也合成和积累一些有机物质如脯氨酸,但有机渗透调节剂在整个渗透调节中所占的比例相当小。再如一些蒿属(*Artemisia*)植物,其渗透调节物质主要是一些可溶性的有机物质,但也吸收和积累一些无机盐离子,例如 Na^+、K^+、Cl^- 等。

我们对稀盐型盐生植物盐碱蓬愈伤组织细胞在 NaCl 处理下渗透调节溶质含量及其对渗透调节的相对贡献进行了分析,表 2-20 是八种主要溶质在细胞内的平均浓度,即以相对组织含水量为分母的溶质含量。以八种溶质浓度之和(100%)表示组织的总渗透调节,而每种溶质浓度占总浓度的百分数表示该溶质对渗透调节的相对贡献度。

可以看出,随着 NaCl 浓度的增加,各种无机离子和有机溶质的浓度都明显增加。其中增加最多的是 Na^+,当 NaCl 的浓度是 50、150 和 250 mmol/L,Na^+ 浓度分别是对照的 2.2、8.1 和 15.8 倍。在对照的愈伤组织中,组织渗透势的贡献主要来自可溶性糖、Na^+、K^+,其贡献分别是可溶性糖占 42.53%,Na^+ 占 21.10%,K^+ 占 20.24%;随 NaCl 浓度的增加,起主要作用的仍然是可溶性糖,Na^+、K^+,其次是 Ca^{2+}、有机酸,但 Na^+ 起主要作用,它在对渗透势的贡献中所占的比例越来越大,从 50 mmol/L ~ 250 mmol/L 分别是 34.69%、59.46%、72.56%,而可溶性糖、K^+、Ca^{2+}、有机酸所起的作用越来越小,Cl^-、脯氨酸、游离氨基酸所起的作用也越来越小。一般认为,在 NaCl 处理条件下,总糖、脯氨酸和 K^+ 主要积累在细胞质中,而 Na^+ 和 Cl^- 则主要积累在液泡中,且认为成熟细胞的细胞质占细胞总体积的 10% 左右,而液泡则占 90%。所以在 NaCl 胁迫下,在 150 mmol/L NaCl 处理时总糖和脯氨酸为 128.8 mmol/L,而 Na^+ 和 Cl^- 是 454.96 mmol/L,因为液泡的体积是细胞质的 9 倍,所以 128.8 mmol/L × 9 大于 454.96 mmol/L,如果细胞中再加上 K^+,那么细胞质中的溶质总浓度会更高。说明盐地碱蓬愈伤组织细胞质中有机溶质的积累足以平衡液泡渗透式的下降,这种情况在 50 mmol/L NaCl 溶液处理时更为突出,细胞质中渗压剂大于液泡的部分在 NaCl 胁迫下对细胞质生物大分子可能起保护作用。其次,很可能在细胞水平上,尤其是 NaCl 处理黑暗条件下,可溶性糖及部分 K^+ 贮存在液泡中起营养库作用,这对适应盐处理及黑暗条件下的生长具有重要意义。当然以上计算只是理论上的假定,实际情况溶质在细胞内的区隔化不会这样绝对,特别是严重胁迫时,溶质的区隔化就可能破坏。但至少可以说明,从细胞水平上考虑溶质对渗透调节的贡献仅取决于溶质平均浓度,故脯氨酸和总游离氨基酸的增加在 NaCl 胁迫下对盐地碱蓬细胞渗透调节不起重要作用,但在降低细胞质渗透势以平衡液泡渗透势降低,特别是在保护细胞质中酶等生物大分子活性方面却具有重要作用。

表 2-20 NaCl 处理对盐地碱蓬愈伤组织溶质含量的影响及各种溶质对渗透调节的相对贡献

溶质:NaCl/mmol·L^{-1}	0	50	150	250
Na^+	54.32 ± 1.80d	120.44 ± 2.41c	440.45 ± 11.01b	860.50 ± 13.23a
(%)	(21.10)	(34.69)	(59.46)	(72.56)
K^+	52.10 ± 1.02d	70.58 ± 1.76c	120.29 ± 2.41a	112.24 ± 2.53b
(%)	(20.24)	(20.33)	(16.24)	(9.46)
Ca^{2+}	22.25 ± 0.74a	23.04 ± 0.98a	23.38 ± 1.01a	22.50 ± 0.94a
(%)	(8.64)	(6.64)	(3.16)	(1.90)

续表

溶质：NaCl/mmol·L^{-1}	0	50	150	250
Cl^-	7.65 ± 0.19d	10.08 ± 0.17c	14.51 ± 0.13b	22.00 ± 0.21a
(%)	(2.97)	(2.90)	(1.96)	(1.86)
SS	109.49 ± 2.54c	110.94 ± 2.68c	128.22 ± 1.59b	152.48 ± 2.22a
(%)	(42.53)	(31.96)	(17.31)	(12.86)
OA	10.09 ± 0.25b	10.39 ± 0.23b	11.85 ± 0.19ab	12.80 ± 0.31a
(%)	(3.92)	(3.00)	(1.60)	(1.08)
Pro	0.30 ± 0.01d	0.44 ± 0.01c	0.58 ± 0.02b	1.63 ± 0.05a
(%)	(0.12)	(0.13)	(0.08)	(0.14)
AA	1.22 ± 0.04c	1.23 ± 0.06c	1.52 ± 0.11b	1.75 ± 0.04a
(%)	(0.47)	(0.35)	(0.21)	(0.15)
Total	257.42 ± 5.23d	347.14 ± 4.21c	740.80 ± 13.98b	1185.90 ± 16.52a
(%)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)

表中数据表示 NaCl 处理 7 d 各种溶质在盐地碱蓬愈伤组织中的浓度，每个数据是 4 个重复的平均值 ± SD($n=4$)，数值后面不同的字母表示差异显著($P<0.05$)，SS：可溶性糖；OA：有机酸；Pro：脯氨酸；AA：游离氨基酸；Total：全部溶质。（引自 Chen 等，2009）

以无机离子作渗透调节剂的能耗。Yeo(1983)比较了盐生植物和非盐生植物外界单盐溶液中吸收和积累一些无机离子 Na^+、K^+、Cl^- 等的能耗(表 2-21)。结果表明，非盐生植物的细胞培养在 1 mmol/L KCl 中，其液泡积累 200 mmol/L K^+、Cl^-，这种细胞逆自由能梯度转移 K^+ 和 Cl^-，其总能耗为 23.7 kJ/mol KCl，即每增加 1 kg 鲜重就增加 4.7 kJ 离子的自由能(即消耗 4.7 kJ 自由能/1 kg 鲜重)。如果培养在 0.1 mmol/L KCl 溶液中，细胞的液泡的浓度也积累到 200 mmol/L 中 KCl 的浓度，则该细胞的总能耗为 34.9 kJ，即每增加 1 kg 鲜重耗能 7.0 kJ。生长在海水中的盐生植物，海水浓度为 560 mmol/L 盐溶液，则盐生植物的液泡可积累 600 mmol/L NaCl，这种细胞只是逆自由能梯度转转移 Cl^-，其总能耗为 8.9 kJ/mol Cl^-，每增加 1 kg 鲜重能耗 5.4 kJ。显然，盐生植物在吸收和积累离子的过程中的能耗小于非盐生植物，实际上，盐生植物进行离子运转的能耗是大于非盐生植物的，因为 Na^+ 向液泡中的区域化及由盐腺等分泌出体外都需要消耗大量能量。

表 2-21 盐生植物和非盐生植物积累离子的热力学耗能（引自 Yeo，1983）

		胞外	胞质	液泡中	离子跨膜电化学势差			离子跨膜电化学势差
		mmol/L^{-1}			Δū/kJ·mol^{-1}			Δū/kJ·mol^{-1}
					质膜	液泡膜	总计	总计
盐生植物	K^+	10	80	80	−4.6	+1.0	−3.6	−0.3
	Na^+	480	150	600	−12.4	+2.4	−10.0	−0.6
	Cl^-	560	200	600	+7.2	+1.7	+8.9	+5.4
							+8.9	+5.4
非盐生植物	K^+	1	100	200	+1.5	+0.7	+2.2	+0.4
	Cl^-	1	100	200	+20.8	+0.7	+21.5	+4.3
							+23.7	+4.7
	K^+	0.1	100	200	+7.1	+0.7	+7.8	+1.6
	Cl^-	0.1	100	200	+26.4	+0.7	+27.1	+5.4
							+34.9	+7.0

必须指出,上述计算结果,不能真正表明生长在自然条件下的盐生植物和非盐生植物吸收和积累无机离子的能耗。主要原因是上述计算都是在特定的条件下和完全按照平衡热力学原理进行计算的,而生长在自然条件下的植物是一个不可逆的平衡热力学系统,不同种的植物,其离子的扩散电势是不一样的,而细胞膜电势也随外界环境条件变化而变化。尽管如此,上述计算,仍能大概反映植物在吸收和积累无机离子过程中的能耗能量,有一定的参考价值。

以合成有机物质作为渗透调节剂的能耗。无论是盐生植物还是非盐生植物,在盐胁迫下均利用细胞合成的有机物质作为细胞质渗透调节剂。由于渗透调节溶质对渗透势降低的贡献只与溶质点数有关,而与其分子量大小无关。所以,一般而言,以合成有机物质作为渗透调节剂的能耗要远远大于以无机离子作为渗透调节剂的能耗。例如,植物细胞中,如果用 1 mol Na^+ 作为渗透调节物质需要 3.5 mol ATP,如果同样积累 1 mol 有机物质作为渗透调节物质所需要的 ATP:甘露醇为 34 mol、脯氨酸为 41 mol、甜菜碱为 41 mol、蔗糖约为 52 mol。如果在细胞中要建立一个相同渗透势系统,一个细胞以无机离子 Cl^- 为渗透调节剂,而另一个细胞以在细胞内合成葡萄糖作为渗透调节剂,则细胞运转 Cl^- 的能耗仅是合成葡萄糖能耗的 5%。根据 Greenway 和 Munns (1983)的报道,当植物细胞培养在 500 mmol/L NaCl 条件下,如果以无机离子作为渗透调节剂,其吸收和积累无机离子的能耗,仅是合成六碳糖能耗的 1%。即使植物细胞以相对分子质量小于六碳糖的有机物,如脯氨酸作为渗透调节剂,而合成它们的能耗仍比吸收和积累无机盐离子所需这能耗要多得多。一般情况下,要调节 NaCl 浓度 200 mmol/L NaCl,则需要 0.5 g 葡萄糖。显然,从溶质势的建立而论,利用无机盐离子作为细胞的渗透调节剂,要比利用小分子有机物质所需之能耗要少得多。

两种渗透调节剂的能耗比较。从以上论述可以看出,植物如果采用无机离子作为渗透调节剂,其能耗远低于采用有机渗透剂的能耗。例如一种植物细胞培养在 500 mmol/L NaCl 条件下,为了维持正常的膨压,保证细胞生长速度,必须进行渗透调节,此时如果利用葡萄糖作为渗透调节剂,则其能耗为利用无机离子作为渗透调节剂的 99 倍。虽然以无机离子作为渗透调节剂具有低能耗的优点,生长在盐胁迫条件下的植物,在其进行渗透调节的过程中,仍需要一定数量的有机渗透调节剂,因为有机渗透调节剂主要位于细胞质中,而无机离子主要存在于液泡中,有机渗透调节剂具有保护酶活性和无机离子不可代替的一些生理功能。另外,有机渗透调节剂一般都贮存在细胞质中,因而细胞质中的有机渗透调节剂还可以平衡液泡的水势,避免细胞质脱水。再者,细胞中的渗透调节剂对细胞来说都是相容而无毒的,而无机渗透调节剂,例如 Na^+、Cl^- 等,在较高浓度时对细胞都是有毒的。

维持渗透势的能耗。当外界盐度增大时,生长在这种条件下的植物需要快速作出响应,通过渗透调节形成新的细胞溶质势,以适应新的外界盐度。另外,一旦形成这种溶质势,就必须将这种溶质势维持下去,维持的时间可能是几个周、几个月,或者更长的时间。如果渗透调节剂是无机离子,由于 Na^+、K^+、Cl^- 等无机离子都不能自由通过细胞质膜、液泡膜等进行吸收和转运,具有一定的选择透性。要维持膜内外的离子浓度差及细胞内离子稳态,细胞要不断地进行跨膜运转,显然,所有这些过程都要消耗一定的能量。除此之外,对无机离子来说,还要考虑到膜电势、被动运输、自由能梯度等问题。如果细胞渗透调节剂是有机物质——相容溶质(compatible solutes),它既不需要区域化作用,也不会渗漏到细胞外,但在一定时间内会分解和重新合成,因此,也需要消耗一定的能量才能维持一定的溶质势。维持溶质势过程消耗的能量即溶质势的维持

能耗。

总之,为了维持细胞的渗透势,细胞中无机离子渗漏越少,相容溶质降解越慢,维持渗透势的能耗也越小。

根据能耗选择耐盐植物品种。从能耗角度分析,在盐生植物中,积盐型植物(salt includer, accumulator)生长在盐胁迫下其能耗较小,因此,在同样条件下它们生长得比较快;而拒/排盐植物(salt excluder/secretor),则能耗较大,所以生长缓慢。其主要原因之一,是因为前者生长在盐渍环境中的渗透调节方式,是以吸收和积累无机离子作为渗透调节剂为主,而后者是以合成有机溶质作为渗透调节剂进行渗透调节为主。根据前面所述,利用无机离子作为渗透调节剂的能耗远低于以有机溶质作为渗透调节剂的原理,显然,积盐植物的能耗小于拒或排盐植物。其次,由于积盐植物以无机盐离子为主要的渗透调节剂,它可以迅速地从外界(盐渍环境)吸收和积累大量盐离子,并通过区域化运输到液泡中,由于细胞质膜具有大约存在 -120 ~ -200 mV 的内负外正的跨膜电势,所以当环境中存在高浓度 NaCl 时,其根对 Na^+ 的吸收主要为通过离子通道的扩散过程,速度可达到为 10 mmol · L^{-1} · g^{-1}DW · d^{-1},较 K^+ 的吸收大 10 倍,较已知的载体运输过程快得多。Na^+ 进入盐生植物细胞主要通过 K^+ 通道、载体及其他非选择性阳离子通道。事实上细胞质膜上的质子泵、Na^+/H^+ 转运体(SOS1)以及离子通道都直接或间接参与 Na^+ 的跨膜转运来完成。但是,根据能耗选择耐盐植物品种理论上是可行的,而在育种实践上很难实行。

2.6.5 Na^+ 从外界进入细胞的可能途径

植物细胞质膜内负外正的膜电势和胞外 Na^+ 浓度升高所建立起的 Na^+ 电化学势梯度,都有利于 Na^+ 从外界环境被动运输到植物细胞内。迄今为止,虽然植物吸收 Na^+ 的机制还不十分清楚,但 Na^+ 和 K^+ 的水合半径非常相似,有些运输蛋白很难把它们区分开,各种证据均显示 Na^+ 可竞争 K^+ 转运体进入细胞,这也是高 NaCl 胁迫下植物吸收 K^+ 减少含量下降的原因之一。

一般认为,Na^+ 进入植物细胞通过两种途径:其一是低亲和 K^+ 通道(channels);另一个是低亲和或高亲和 K^+ 载体(carriers)。前者包括内向整流 K^+ 通道(K^+ inwardly rectifying channels, KIRCs)、外向整流 K^+ 通道(K^+ outwardly rectifying channels, KORCs)、不依赖电压型的阳离子通道(voltage independent cation channels, VICs)或非选择阳离子通道(non-selective cation channels, NSCC or NCS)。内向整流 K^+ 通道(KIRC),如 AKT1,通过质膜超极化活化 K^+ 内流,在外界生理浓度的 Na^+ 和 K^+ 下具有较高的 K^+/Na^+ 选择性,在拟南芥中,敲除 *AKT1* 所得到的突变株表现出的盐敏感性和野生型相似,表明此通道在 Na^+ 的吸收中不起主要作用。外向整流 K^+ 通道(KORCs),如 KCO1,在质膜去极化时开放,介导 K^+ 外排和 Na^+ 内流。NSCC 具有较高的 K^+/Na^+ 选择比,不受电压影响,在高盐条件下可能是 Na^+ 吸收的主要途径。拟南芥中 Na^+ 的内流途径不是通过 HKT1,也不是通过 K^+ 通道,而是通过非选择阳离子通道(nonselective cation channels, NSCCs)。NSCCs 在植物耐盐性中起重要作用,并且是 Na^+ 进入植物体的主要途径。NSCCs 根据它们对电压的依赖情况分为三种,去极化激活型 NSCCs(depolarization-activated NSCCs, DA-NSCCs)、电压不依赖型 NSCCs(voltage-independent NSCCs, VI-NSCCs)和超极化激活型 NSCCs(hyperpolarization-activated NSCCs, HA-NSCCs)。尽管二价离子和一价离子都能通过 DA - NSCCs 内流,但因其对 Na^+ 相对高的透性,认为它在 Na^+ 内流中起重要作用,并且 DA - NSCCs 能有效地被细胞外的 Ca^{2+} 阻滞。Volkov 和 Amtman(2001)的结果表明,盐芥(*Thellungiella halophila*)和拟

南芥相比之所以更耐盐是因为在盐胁迫条件下盐芥根部的 Na^+ 内流明显小于拟南芥根部的 Na^+ 内流，但二者的 Na^+ 外排速率相等。所以在植物耐盐性中起决定作用的是限制 Na^+ 的内流而不是增大 Na^+ 外排。盐芥根部 Na^+ 内流明显小于拟南芥根部 Na^+ 内流是由于盐芥根中的 DA - NSCCs 对 K^+/Na^+ 选择比是拟南芥根中 DA - NSCCs 对 K^+/Na^+ 选择比的 4 倍，所以进入盐芥根中的 Na^+ 远远小于进入拟南芥中的。Demidchik 和 Maathuis(2007)发现，VI - NSCCs 是 Na^+ 进入植物体的另一个通道，大量实验表明根部 Na^+ 内流在很大程度上是由 VI - NSCCs 介导的，并且观察到 Ca^{2+} 对通过 VI - NSCCs 进入根中的 Na^+ 流有直接的阻滞作用，Ca^{2+} 能阻滞 Na^+ 内流是 Ca^{2+} 能缓解盐害的最主要的原因。许多研究表明，植物细胞质膜上还存在不依赖电压型的阳离子通道 VIC(voltage-independent cation channels)，这些通道比电压依赖型通道(KIRC 和 KORC)具有较高的 Na^+/K^+ 选择性。1999 年 Amtmann 和 Sanders 提出不同阳离子通道的简单模型，并认为不依赖电压型通道是高盐环境中 Na^+ 吸收的主要途径。

很早就有人提出钾离子内流载体可调节钠离子的内流，迄今已发现有 2 种类型 K^+ 载体。一类 K^+ 载体是 KUP/HAK/KT 家族，这类转运体在外界高浓度 Na^+ 下，可调节低亲和的 Na^+ 内流。另一类 K^+ 载体是 HKT(high-affinity K^+ transporter)家族，HKT1 cDNA 最初是从小麦根的 cDNA 文库中分离到的。目前已经从多种植物中克隆到 *HKT* 家族的基因。为了进一步分析 HKT1 的功能，Horie 等(2001)在酵母和非洲爪蟾卵母细胞中表达 TaHKT1，结果表明：TaHKT1 有 2 种转运模式，一为高亲和 $K^+ - Na^+$ 协同转运体，另一为低亲和的 Na^+ 转运体。小麦 TaHKT1 在 μmol 级浓度 Na^+ 中可刺激其高亲和 K^+ 吸收，当外界的 Na^+ 浓度高到毒害水平时，TaHKT1 的 K^+ 吸收活性受抑制，表现为低亲和 Na^+ 单向转运体。Ren 等(2005)的工作表明水稻 SKC1($OsHKT_8$)是 Na^+ 单向转运体，但此转运体主要是在调控根/地上部分 Na^+ 的分配和 Na^+ 从地上部分至根部的再循环过程中起作用，SKC1 在 Na^+ 再循环中的功能可能是从木质部卸载 Na^+。所有这些结果表明 HKT 蛋白可能介导组成型的 Na^+ 吸收。最近我们实验室从盐生生物盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)中克隆到 *SsHKT1*，BLASTX 分析表明其氨基酸序列与冰叶日中花中的 *McHKT*1 同源性最高(为 55%)，其在叶中的表达量高于根中，显示 SsHKT1 可能与盐地碱蓬的 K^+/Na^+ 选择性有关。关于 HKT1 的在植物 K^+/Na^+ 选择性吸收与转运中的作用有待深入研究。植物细胞质膜上 Na^+ 内流相关转运蛋白总结如图 2 - 38。

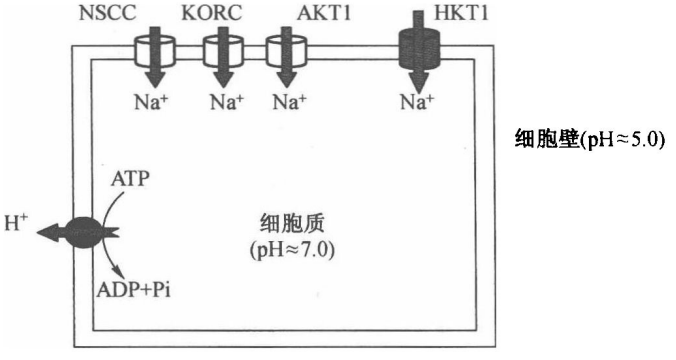


图 2 - 38 植物细胞质膜上 Na^+ 内流相关转运蛋白

2.6.6 盐离子的区域化作用机理

一旦 Na^+ 从外界进入细胞中以后，为了适应盐分的两种胁迫——渗透胁迫和离子胁迫，避免 Na^+ 在细胞质中积累，盐生植物细胞采取以下措施达到此目的：①通过 SOS1 等排除到细胞外；②将盐离子区域化到液泡中保存起来。这个过程就是**离子区域化作用**（ionic compartmentalization），把细胞质中的有害离子输入到代谢不旺盛的细胞壁或液泡中。

（1）Na^+ 进入细胞后区域化机理

离子区域化的机理，主要由质膜和液胞膜上**质子泵**（proton）、Na^+/H^+ 逆向转运蛋白（Na^+/H^+ antiporter）和离子通道（channel）调控。一方面，把进入细胞的 Na^+ 运出细胞；另一方面把进入细胞的 Na^+ 区域化到液泡中，以维持细胞离子及 pH 稳态。

质子泵　质膜和液胞膜上的质子泵是通过 H^+ - ATP 酶（H^+ - ATPase）水解 ATP 或焦磷酸酶（pyrophosphatase）水解焦磷酸（ppi）产生的能量将 H^+ 泵出细胞或泵入液泡中，产生跨膜的电化势梯度，即**质子驱动力**（proton motive force，PMF），从而使盐离子进行跨膜运输。$PMF = \Delta pH + \Delta\psi$。PMF 包括跨膜电势梯度（$\Delta\psi$）（即细胞质膜内侧电位负值，外侧电位正值；而液泡膜细胞质侧电位负值，液泡液侧电位正值）和跨膜 H^+ 浓度梯度（质膜外浓度高，细胞质一侧质子浓度低；液泡液质子浓度高，细胞质一侧质子浓度低）。如果是质膜 PMF 的形成则是由质膜 ATP 酶水解 ATP 产生的，如果是液泡膜 PMF 的形成则是由液泡膜 ATP 酶水解 ATP 和液泡膜焦磷酸酶水解焦磷酸产生的。质膜和液泡膜上三种不同类型的质子泵示如（图 2-39）。PMF 通过载体和通道驱动 Na、K 等溶质次级主动或被动运输（图 2-40）。

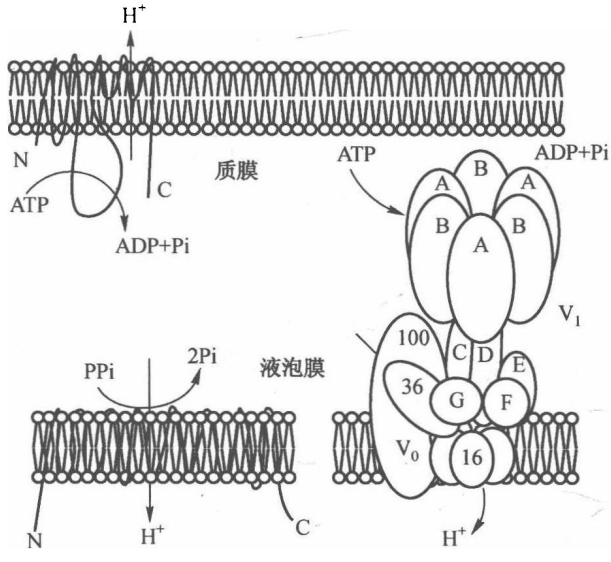


图 2-39　植物细胞质膜 H^+ - ATP 酶（上），液泡膜 H^+ - 焦磷酸酶（左下）和液泡膜 H^+ - ATP（右下）的结构示意图

（引自 Sze 等，1999）

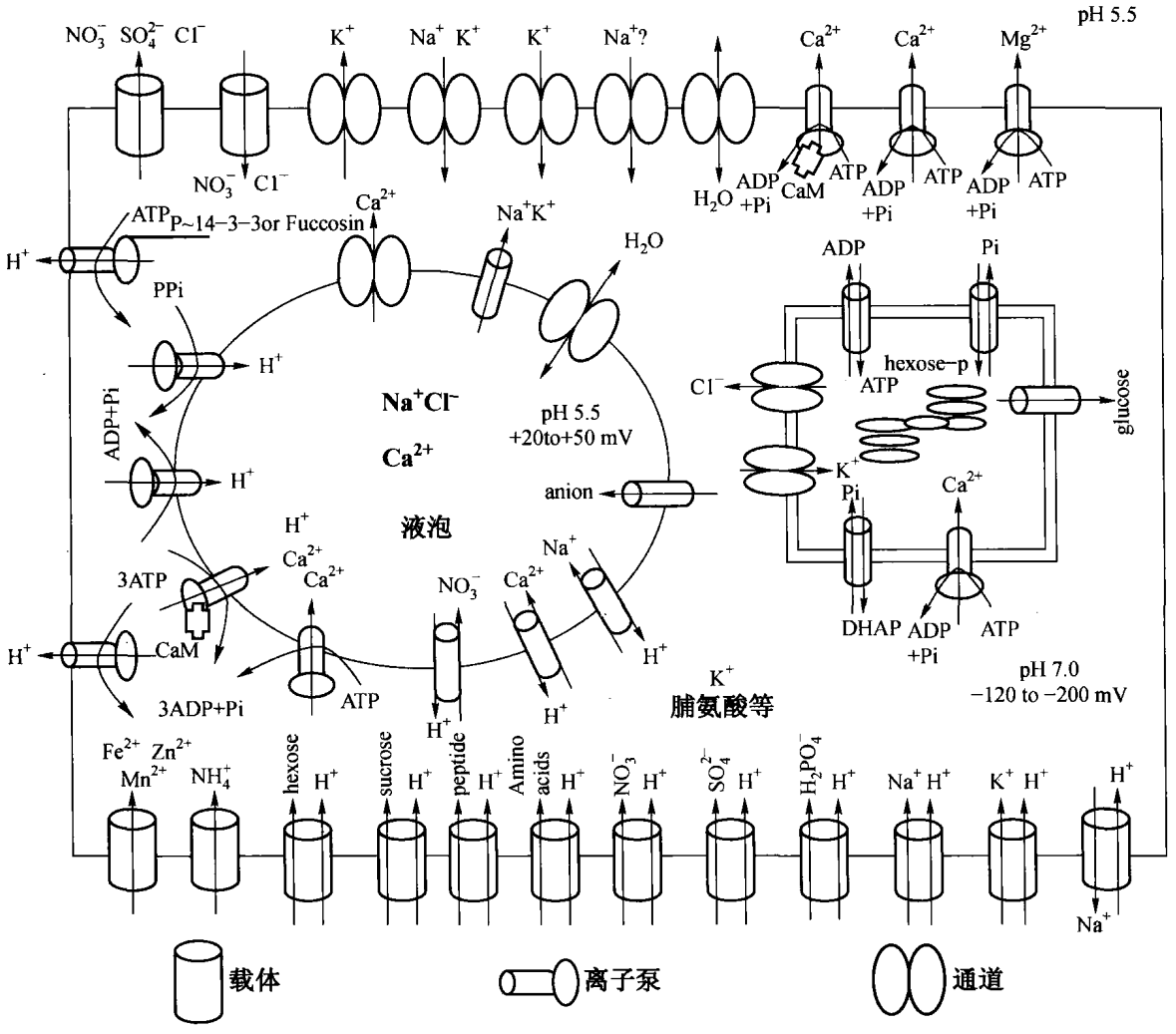


图 2-40 PMF 通过载体和通道驱动 Na、K 等溶质跨膜次级运输示意图

(引自王宝山,2007)

质膜质子泵 质膜质子泵又称质膜 H^+ - ATP 酶,是植物生命活动的主宰酶(master enzyme),对植物的许多生命活动起着重要的调控作用,其主要功能是形成跨质膜质子驱动力(PMF)。跨质膜的 PMF 是植物细胞矿质元素等溶质进行跨膜次级主动转运的主要驱动力。因此,质膜 H^+ - ATP 酶对矿质元素的吸收、细胞质 pH 恒定的维持、细胞的生长和植物对环境因子的响应等有广泛而深刻的作用。

质膜 H^+ - ATP 酶为相对分子质量约 100×10^3 单一多肽,是一种跨膜 10 次的蛋白,其氨基端(N 末端)和羧基端(C 末端)都位于细胞质侧,另外在胞质内分别形成一个小环(位于第二个跨膜区和第三个跨膜区之间)和一个大环(位于第四个跨膜区和第五个跨膜区之间)。N 末端在膜内侧构成 H^+ 入口,C 末端是自抑制区域,调控酶的活力,Fusicoccin(克梭孢菌素)和 14-3-3 蛋白对其有重要调控作用。由前 6 个跨膜区组成质子通道。该酶有三个结构域:A 结构域(actuator domain)、P 结构域(phosphorylation domain)、N 结构域(nucleotide binding domain)。其中 A

结构域包括 N 末端和一部分小胞质环，P 结构域和 N 结构域都位于大胞质环内，P 结构域包含天冬氨酰残基（Asp 位点），在催化循环中能够被磷酸化、N 结构域包含有 ATP 结合位点，并且与 P 结构域相连。其 N 末端和 C 末端均在细胞质侧，C 末端为自抑制区末端（图 2－39），每水解 1 分子 ATP 泵出 0～1 个 H^+，专一性抑制剂为 VO_4^{3-} 和乙烯雌酚（DES）。

质膜 H^+－ATPase 是一个大基因家族。植物细胞质膜 H^+－ATPase 是由多基因编码的。其中拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）中有 12 个基因（*AHA1*－*AHA12*）；烟草（*Nicotiana plumbaginifolia*）中有 9 个基因（*PMA1*－*PMA9*）；水稻（*Oryza sativa*）中有 10 个基因（*OSA1*－*OSA10*）。另外在番茄（*Lycopersicon esculentum*）等其他植物中也报道有 1 个以上的基因。这些基因根据其氨基酸序列的不同，被分成 5 个亚家族（见表 2－22）。这 5 个亚家族的分类在单子叶植物和双子叶植物之间没有差别，这可能是因为这 5 个亚家族的分离要早于单子叶植物和双子叶植物的分离。其中亚家族Ⅰ、Ⅱ的基因表达丰度高，这是因为其序列可以从 cDNA 克隆中得到，相反亚家族Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ的基因序列只能从基因组克隆中得到，这暗示它们要么在正常情况下表达丰度很低，要么是在特殊的细胞类型中或条件下表达。例如 *AHA*10 分布在萌发的种子中。植物质膜 H^+－ATPase 存在多个基因，这样能使它在不同的细胞和组织中更好地调节，也能使植物更好的适应各种环境变化。

近年来研究表明，植物细胞质膜 H^+－ATPase 可能与盐胁迫下 Na^+ 外排及细胞离子和 pH 稳态重建有关。所以，质膜 H^+－ATP 酶在植物抗盐中起重要作用。NaCl 胁迫对 PM H^+－ATPase 活性的影响因植物的种类、器官和处理强度的不同而异，而活性变化的原因可能是基因转录、翻译及蛋白质修饰等原因。NaCl 胁迫引起 PM H^+－ATPase 的活性变化及酶蛋白量变化之间的关系，目前主要有两种观点：一种认为，PM H^+－ATPase 活性的变化是由于 NaCl 使蛋白量发生变化所致，而不是由于对其活性的调节。Yang 等（2004）研究表明：NaCl 增加了耐盐小麦品种 L－Ch20 根中质膜 H^+－ATPase 的活性和蛋白量；而在盐敏感品种 Y－J24 的根中，NaCl 处理却降低了质膜 H^+－ATPase 的活性和蛋白量，他们认为质膜 H^+－ATPase 的活性下降是因蛋白量下降所致。NaCl 胁迫对 PM H^+－ATPase 基因转录也有显著影响。Niu 等（1993a）用不同浓度 NaCl 处理盐生植物大洋洲滨藜（*Atriplex nummularia*）和甜土植物烟草（*Nicotiana tabacum*）然后分别检测根、茎、叶中质膜 H^+－ATPase 基因的表达情况，结果表明，盐主要上调了根和成熟叶中质膜 H^+－ATPase 基因的表达，而且盐生植物大洋洲滨藜（*Atriplex nummularia*）中质膜 H^+－ATPase 基因受盐诱导表达程度要比甜土植物烟草（*Nicotiana tabacum*）强的多。Niu 等（1993a）用 342 mmol/L NaCl 处理盐生植物大洋洲滨藜（*Atriplex nummularia*）的悬浮培养细胞，目的是检测 NaCl 对其细胞质膜 H^+－ATPase 基因表达的影响，结果表明，把细胞先放在含盐介质（NaCl 浓度为 342 mmol/L）中培养一段时间，然后再培养在不含 NaCl 的营养介质中，经过这种处理的细胞，NaCl 诱导其基因表达的效果最明显，而且 NaCl 诱导质膜 H^+－ATPase 基因的表达受细胞发育阶段调节，其中当细胞从滞后期到指数生长期时，诱导效果最明显。Vitart 等（2001）用 T－DNA 插入突变的方法使亚家族Ⅰ中的 *AHA4* 发生突变，突变后的 *AHA4* 没有缺失表达，但是所形成的质膜 H^+－ATPase 产物不完整，从而影响其功能，导致突变株对盐高度敏感，根和叶的生长量与野生型相比稍有下降。由此推断，此同工酶可能与植物的耐盐性有关。

液泡膜质子泵　液泡膜有两种类型的质子泵：一是液泡膜 H^+－ATP 酶（V－H^+－ATP 酶），二是液泡膜 H^+－焦磷酸酶（V－H^+－pyrophosphatase），它们分别水解细胞质中的 ATP 和 PPi 把

细胞质中 H^+ 的逆电化学势梯度泵入液泡中，建立跨液泡膜的质子驱动力（PMF），从而驱动溶质的跨液泡膜的次级主动转运。液泡膜 H^+ - ATP 酶为多亚基复合体，类似于线粒体和叶绿体的 F - ATP 酶，为头柄结构，分为细胞质一侧的 V_1 部分和膜中的 V_0 部分，V_1 有 8 种亚基组成（A、B、C、D、E、F、G、H），而膜内部分则称为 V_0，Mr 相对分子质量约为 260×10^3，有 5 ~ 6 种亚基组成（a、d、c、c′、c″、e）（Kluge 等，2003），相对分子质量约为 650×10^3（图 2 - 41）。其底物为 Mg^{2+} - ATP，最适 pH 为 7.5 ~ 8.0，Cl^-、Br^- 和 I^- 等阴离子对其活性有激活作用，其专一性抑制剂为 bafilomycin A_1、concanamycin A 和 NO_3^-，每水解 1 分子 ATP 泵 2 ~ 3 分子 H^+。应注意，在线粒体膜和类囊体膜中存在的 H^+ - ATP 酶，虽然结构与液泡膜 H^+ - ATP 酶相似，但功能正好相反，即利用光合电子传递和氧化电子传递过程中产生跨膜 H^+ 梯度合成 ATP。此外，内质网和高尔基体膜中也存在 H^+ - ATP 酶。

表 2 - 22　拟南芥、烟草和水稻质膜 H^+ - ATPase 的基因家族及其特点（引自 Palmgren，2001）

亚家族	物种	基因	基因序列号	氨基酸长度	表达部位（器官）
Ⅰ	拟南芥	*AHA4*	Q9SU58	960	根、花
		AHA1	Q9LV11	956	
	烟草	*PMA1*	Q08435	957	根、茎、叶、花
		PMA2	Q42932	956	根、茎、叶、花
		PMA3	Q08436	956	根、茎、叶、花
	水稻	*OSA1*	AJ439999	956	
		OSA2	AJ440000	957	
		OSA3	AF11026	265	
Ⅱ	拟南芥	*AHA1*	P20649	949	根、茎
		AHA2	P19456	948	根
		AHA3	P20431	949	根、茎、叶、花
		AHA5	Q9SJB3	949	
		AHA1	Q9T0E0	813	
	烟草	*PMA4*	Q03194	952	根、茎、叶、花
	水稻	*OSA5*	AJ440216	955	
		OSA7	AJ440218	948	
Ⅲ	拟南芥	*AHA1*	Q43128	947	花、种子
	烟草	*PMA9*	Q9SWH0	950	花
	水稻	*OSA9*	AJ440220	943	
Ⅳ	拟南芥	*AHA6*	Q9SH76	949	
		AHA8	Q9M2A0	948	
		AHA9	Q42556	954	
	花烟草	*PMA5*	AY77246	925	子叶、茎、花、果实
		PMA6	Q9SWH2	954	叶、花
	水稻	*OSA4*	AJ440002	956	
		OSA6	AJ440217	942	
		OSA1	AJ440221	865	
Ⅴ	拟南芥	*AHA7*	Q9LY32	961	
	烟草	*PMA8*	Q9SWH1	966	茎、叶
	水稻	*OSA8*	AJ440219	943	

对于盐胁迫条件下 V－H^+－ATPase 的活性及其在转录和翻译水平上的变化已进行了大量研究。对于盐生植物而言，盐处理对 V－H^+－ATPase 有促进作用。Dietz 等(2001)对兼性 CAM 植物冰叶日中花(*Mesembryanthemum crystallinum*)进行了深入研究。对于生长 5 周和 10 周的盐适应的冰叶日中花，400 mmol/L NaCl 处理 72 h 其叶片 V－H^+－ATPase A，B，E，F，G 和 c 亚基转录协同增加。盐适应的冰叶日中花 V－H^+－ATPase 各亚基转录协同增加暗示 V－H^+－ATPase 全酶复合物数目的增加，这与生理研究表明的盐胁迫下盐适应的冰叶日中花 V－H^+－ATPase 活性增加相一致。Wang 等(2001)已经证明：盐地碱蓬在 100 mmol/L NaCl 和 400 mmol/L NaCl 胁迫条件下，叶片中 V－ATPase 水解活性较对照显著增加。盐胁迫下 V－ATPase 水解及质子转运活性的升高体现了盐生植物对盐胁迫的适应，而且 V－ATPase 在盐地碱蓬抗盐方面比 V－PPase 更重要。而对于非盐生植物，V－H^+－ATPase 亚基表达并不受盐胁迫调节：300 mmol/L NaCl 胁迫下大麦根部细胞 V－H^+－ATPase E 亚基表达稍有增加而叶片 E 亚基表达没有变化；盐胁迫不影响拟南芥 V－H^+－ATPase D 亚基的表达(Kluge 等，1999)。这些结果表明盐胁迫下液泡 V－H^+－ATPase 基因表达呈现精密调节可能是植物耐盐的特性及先决条件。由于 V－H^+－ATPase 是多亚基复合体，所以目前尚无法进行转基因操作。

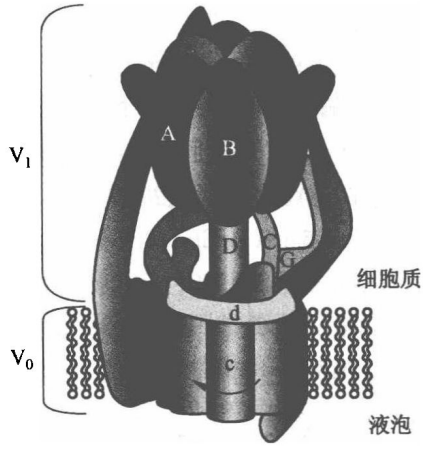


图 2－41　植物 V－ATPase 的结构模型
(引自 Kluge 等，2003)

液泡膜 H^+－PPase(V－H^+－PPase)是植物液泡膜上普遍存在的辅助性的质子泵。其结构简单，一级结构为具有 14 个跨膜区(1～14)、13 个“loops(a～m)”的单一多肽，相对分子质量约 71×10^3～80×10^3(Maeshima，2000)。比较已克隆的来自各种生物的 V－PPase，V－H^+－PPase 有三个高度保守区(图 2－42)。第一个保守区(CS1)朝向胞质面，包含推定的底物水解“催化”结构域。CS1 存在于负电性的 e 环上。第二个保守区 CS2 位于亲水的 i 环上，存在保守的[DE]YYTS 结构域。第三个保守区 CS3 位于 m 环上，靠近多肽链 C－末端，包含一系列带电氨基酸残基。绿豆 V－H^+－PPase CS3 区中三个谷氨酸残基中的任何一个被替代均会导致 V－H^+－PPase 的失活，证明 CS3 可能也朝向胞质面，与 CS1、CS2 共同执行催化功能。

在植物中已发现存在两种类型差异明显的 V－H^+－PPase：类型Ⅰ为质子型，受 K^+ 活化的类似 AVP1 的 V－H^+－PPase；类型Ⅱ为 K^+ 不敏感的类似 AVP2 的 V－H^+－PPase。V－H^+－PPase 水解的真正底物是二镁焦磷酸(Mg_2PPi)，二镁焦磷酸以微摩尔的数量级存在于胞质中。尽管人们对 V－H^+－PPase 是否将 K^+ 运输到液泡中仍有争议，但泵的水解活性和泵送 H^+ 的活性肯定需要在它的胞质一面有 K^+ 存在。大多数情况下 K^+ 可使酶活性增加 3 倍以上。K^+ 为其激活剂，但受 Na^+ 抑制，每水解 1 mol PPi 泵出 1 mol H^+(图 2－39)。其单个亚基的 H^+ 转运效率较低，常以二聚体形式存在(Maeshima，2000)，且其多肽序列非常保守，不同陆生植物之间的序列一致性达 86%～91%，为高等植物最保守的多肽之一。

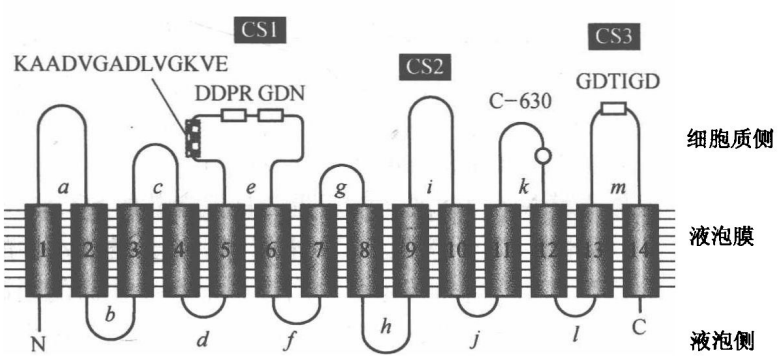


图 2-42 V-H⁺-PPase 的结构模型

1~14 为 14 个跨膜区,CS1,CS2,CS3 为 3 个保守区,底物结合位点在 e 环的 KAADVGADLVGKVE,DDPR、GDN 和 GDTIGD 为不同结合位点,13 个"环(a~m)。(修改自 Maeshima,2001)

一般认为 V-H⁺-PPase 由单基因编码,它的过量表达有可能提供更多的质子驱动力从而提高植物的耐盐性。Gaxiola 等(2001)过量表达 *AVP1* 明显增加了转基因植株跨液泡膜的 H^+ 梯度,增加了溶质中 K^+、Na^+ 等离子的积累。而高浓度 Na^+ 及被增加的 H^+ 梯度又促进了 AtNHX1 所介导的液泡膜 Na^+/H^+ 逆向转运活性,将 Na^+ 区隔化至液泡中,从而明显提高了转基因植株的耐盐性及抗旱性。近年来将植物的 *AVP* 在植物中进行过量表达都明显增加了转基因植株的耐盐性,促进了转基因植株的生长。

Na^+/H^+ 逆向转运体 Na^+/H^+ 逆向转运体(Na^+/H^+ antiporter)是一种普遍存在于酵母、藻类以及高等植物膜系统上的转运蛋白,参与细胞内 pH 调节、Na^+ 代谢和细胞体积变化等多种生命活动,是一种依赖跨膜 H^+ 浓度梯度的电中性的 Na^+/H^+(1:1)跨膜转运蛋白。植物 Na^+/H^+ 逆向转运体属于植物阳离子/质子逆向转运体(cation/proton antiporter,CPA)家族成员,主要定位在细胞质膜和液泡膜上,前者通常命名为 SOS1(salt overly sensitive 1),是 Shi 等(2000)筛选拟南芥盐超敏感突变体得到的;后者命名为 NHX,首先在酵母中发现 NHX1 基因,它编码 Na^+/H^+ 反向转运蛋白,定位于液泡膜上负责将 Na^+ 区隔化于液泡中,可降低酵母细胞质中的 Na^+ 浓度,提高其抗盐性。后来从拟南芥中克隆到的 *AtNH1* 基因。SOS1 和 NHX 同源性较低。植物 Na^+/H^+ 反向转运蛋白的相对分子质量从 35×10^3~130×10^3 不等,一般在 N 端 500~600 个左右的氨基酸组成 10~12 个跨膜区域,这一区域是负责转运的区域,在 C-末端有 300 个氨基酸组成的结构域,位于细胞质侧,含有多个蛋白激酶作用位点,可结合钙调素,参与多种信号反应,是调节活性区域。对 Na^+/H^+ 反向转运蛋白编码基因分析发现,液泡膜上 Na^+/H^+ 反向转运蛋白的基因序列中都具有一段保守序列(^{84}IFFIYLLPPI$_{93}$),可结合氨氯吡嗪咪,但在质膜 Na^+/H^+ 反向转运蛋白基因序列中却没有发现这种氨氯吡嗪咪结合位点。氨氯吡嗪咪及其类似物是 Na^+/H^+ 反向转运蛋白的竞争性抑制剂。

越来越多的研究结果表明,植物 Na^+/H^+ 逆向转运体在植物抗盐中起重要作用。当外部环境中盐度增加时,即提高了膜内外的电势差,质膜质子泵将质子泵出细胞进一步使质膜内的电势下降,这时通过质膜的 Na^+/H^+ 逆向转运体逆电化学势梯度将 Na^+ 运出细胞。同时通过液泡膜 Na^+/H^+ 逆向转运体将 Na^+ 区域化到液泡中,一方面避免了 Na^+ 毒性,另一方面,降低了液泡的渗透势。在外界高盐生境中非盐生植物的质子泵和 Na^+/H^+ 逆向转运体的合成和活性都会受到

抑制,然而,在质膜上不饱和脂肪酸含量增大时,可以清除这种抑制作用。但是,大部分盐生植物的质子泵和 Na^+/H^+ 逆向转运体的合成和活性在高盐生境中都会受到促进,如此,液泡中的 Na^+ 不断增加,渗透势不断降低,从而提高植物的吸水能力,又由于细胞汁液中的 Na^+ 大部分运入液泡中,盐胁迫的离子胁迫同时被消除,于是植物的抗盐性被提高。

目前研究比较清楚的植物质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白是拟南芥的 SOS1。SOS1 相对分子质量为 127×10^3 的多肽,其 N - 末端有 12 个跨膜区,C - 末端有一个长的亲水性的尾巴,序列比较表明,SOS1 与细菌及真菌质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白在序列上有非常高的同源性。*SOS1* 突变后,突变体对 Na^+ 非常敏感。分析 *SOS1* 突变体中等位基因序列的结果表明,SOS1 的跨膜区和亲水尾部对植物耐盐性都非常重要。Shi 等(2000)在拟南芥中过量表达 *AtSOS1* 后,转基因植物的耐盐性明显增加。在接合酵母和裂殖酵母中,Na^+ 外流主要由位于质膜上的 SOD2 完成,我们实验室的 Gao 等(2003)将 *SOD2* 转入拟南芥中后,转基因植株的抗盐能力明显增加。Wu 等(2005)将来源于大肠杆菌(*Escherichia coli*)中的 *nhaA* 转入水稻中,也增加了转基因植物的耐盐能力。这些结果表明,位于质膜上 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白以及细胞内 Na^+ 的外排在植物耐盐性中是有作用的。

越来越多的事实表明 SOS1 是通过 SOS 信号路径起作用的,在这条路径中涉及三个蛋白:SOS3、SOS2 和 SOS1,其中 SOS3 是一个 Ca^{2+} 结合蛋白;SOS2 是一个蛋白激酶;SOS1 是质膜上的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白。盐胁迫可引起细胞质中 Ca^{2+} 的快速增加,升高的 Ca^{2+} 结合并激活 SOS3,激活的 SOS3 激活 SOS2 并且二者形成复合体,再激活 SOS1,激活的 SOS1 将细胞内的 Na^+ 排出细胞,从而降低了盐害(Liu 和 Zhu,1998)。

如上所述,Na^+ 的外排是由质膜上的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白完成,Na^+/H^+ 逆向转运蛋白在植物耐盐中的作用已经得到证实,Na^+ 外流是逆电化学势梯度需要消耗大量的能量,位于质膜上的 H^+ - ATPase 能为 Na^+ 外流提供驱动力,所以质膜 H^+ - ATPase 在植物的抗盐中的作用是不言而喻的。

液泡膜上 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的研究是从酵母开始的。Nass 等(1997)在筛选酵母 calcineurin 突变体(*cnb1*)的抑制子时发现了一个与耐盐性有关的新基因 *NHX1*,它编码 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白,NHX1 定位于前液泡膜和液泡膜上负责将 Na^+ 区隔化到液泡中。众多的实验证明,酵母中去除 Na^+ 毒害的机制可能与植物相同。目前已在许多植物如甜菜、滨藜、冰叶日中花、拟南芥和盐地碱蓬中检测到液泡膜 Na^+/H^+ 逆向转运活性。已从多种植物中克隆到了 Na^+/H^+ 反向转运蛋白基因,如拟南芥、水稻、滨藜、盐芥和盐地碱篷等。在拟南芥和水稻中已经鉴定出 6 个 *NHX* 基因:*AtNHX1 - AtNHX6* 和 *OsNHX1 - OsNHX6*。AtNHX1 是鉴定的第一个液泡膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白,此基因在植物中过表达后可以提高转基因植物的耐盐性。Apse 等(1999)在拟南芥中过量表达 *AtNHX1* 基因的实验结果表明,转基因植株液泡膜 Na^+/H^+ 逆向转运活性明显高于野生型植株,这与 AtNHX1 蛋白表达量增加是一致的,在 200 mmol/L NaCl 溶液胁迫条件下,转基因植株的生长不受影响。增加的液泡膜 Na^+ 转运活性伴随着液泡中 Na^+ 浓度的升高而增大,这就有力地支持了 Na^+ 区隔化在植物耐盐中的作用。后来在番茄和油菜中过量表达 *AtNHX1* 的工作中,得到了进一步验证,用 200 mmol/L NaCl 溶液浇灌的转基因植株仍可正常生长并结实。这些结果充分证明 AtNHX 在液泡 Na^+ 区隔化中的重要功能。

植物耐盐性是一个复杂性状,是多个基因相互作用的结果。盐胁迫后,大量基因表达发生显

著变化似乎也支持这个观点。过去一般认为,单一基因不能显著提高作物的耐盐性。然而最近有研究表明,转单一的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因能够显著提高作物的耐盐性,其原因可能是 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因导入植物植物细胞后激活了一系列与耐盐相关的基因,从而明显提高作物耐盐性。说明转基因和育种技术相结合培育耐盐作物品种是可行的。但是,我们知道,Na^+/H^+ 逆向转运蛋白是依赖跨膜 PMF 的,即质子泵的,所以盐胁迫下质子泵与 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的协同作用可能对植物抗盐更重要。

综上所述,Na^+/H^+ 逆向转运蛋白对植物耐盐性起重要作用。随着对 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白研究的进一步深入,充分揭示盐生植物与非盐生植物 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因在序列和调控等方面的差异,有利于在分子水平上研究 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的结构和功能特征,对盐生植物与非盐生植物、质膜型与液泡型 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因进行比较分析,进一步在细胞和分子水平上明确植物的抗盐机制。特别是了解质膜型与液泡型 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白与质膜和液泡膜质子泵如何协调响应盐胁迫,然后利用分子生物学手段研究这些基因,将其分离、克隆,并转移到非抗盐的农作物中,以培育出抗盐的转基因作物新品种,这种措施的经济效益将是十分可观的,而且未来农业的发展面临人口增多,可耕地减少的挑战,充分利用盐碱地将发挥巨大作用。

离子通道　离子通道有阳离子通道、阴离子通道、非选择性阳离子通道等等。K^+ 主要是通过阳离子通道运输的。离子通道与质子泵不同,它不需要直接利用 ATP 或 PPi 提供能量。离子通道是由蛋白质构成的跨膜孔道组成的,它的开放和关闭是由化学信号、环境信号及膜的极化和去极化控制的。目前已知的阳离子通道有 K^+ 通道和 Ca^{2+} 通道,阴离子通道有 Cl^- 通道等等。从有机离子的跨膜传递的事实可知,膜中还存在供有机离子通过的有机离子通道,如苹果酸通道。

有关 Na^+,K^+ 离子进出细胞及液泡的过程及响应转运蛋白归纳于图 2-43 中。

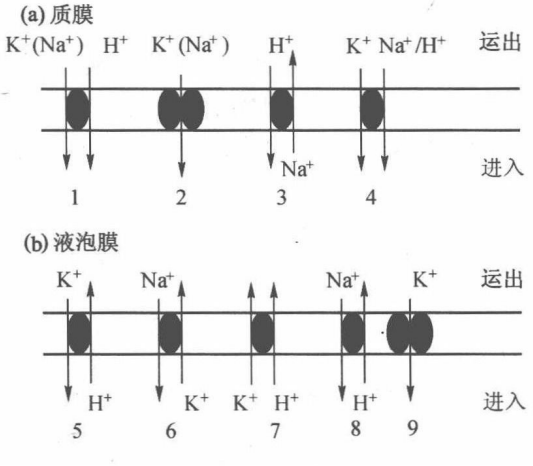


图 2-43　K^+、Na^+ 跨质膜(a)和液泡膜(b)运输的机制

1、7 为 K^+-H^+ 同向转运体;2、9 为 K^+ 通道,3、8 为 Na^+/H^+ 反向转运体,4 为 K^+-Na^+/H^+ 共转运体,5 为 K^+/H^+ 反向转运体,6 为 K^+/Na^+ 反向转运体。(引自王宝山,2009)

(2) 液泡如何长久维持高 Na^+ 浓度

如上所述,植物利用通过液胞膜上的 H^+-ATP 酶(H^+-ATPase)水解 ATP 或焦磷酸酶(pyrophosphatase)水解焦磷酸(ppi)产生的能量将 H^+ 泵入液泡中,产生跨液泡膜的电化势梯度,即质子驱动力(proton motive force:PMF),然后液泡膜上 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白利用质子驱动力把进入细胞质的 Na^+ 泵入液泡中。积盐形盐生植物在高 NaCl 环境中液泡中 Na^+ 可达到数百甚至上千毫摩尔。那么,液泡如何长久维持高 Na^+ 浓度而不反流回细胞质?这个问题尚没有明确答案。有人认为可能与液泡膜的通道特性有关。但是,无论如何液泡长久维持高 Na^+ 浓度是一个耗能能过程。

其次,液泡中 Na^+ 和 Cl^- 不是等摩尔的,一般而言 Na^+ 远远高于 Cl^-。要维持液泡的电中性,显然也要积累一些其他阴离子或带负电荷的有机酸等,这些问题都有待深入研究。

2.7 植物对盐分胁迫信号的接受和传递

众所周知,盐分胁迫对植物生长和发育的抑制效应,基本上是通过作用于水的可利用性的渗透效应以及对植物产生专一性毒性效应的离子效应,这就是盐分胁迫传递给植物的两种信号。在盐渍生境中植物如何接受这两种信号以及接受后又如何传递到细胞内,使植物对盐分胁迫做出响应,这在植物盐害生理和抗盐生理机理研究中,是一个十分重要的问题。

2.7.1 渗透胁迫信号的接受和传递

环境中盐浓度过高使细胞渗透势降低,从而引起细胞渗透保护物质合成基因表达等一系列生理生化响应。而环境和细胞渗透势的变化必须被细胞质膜上的受体(receptors)或感受器(sensor)所接受。

随着分子生物学研究的进展,植物细胞渗透感受器的研究取得了一定进展。牵拉激活通道(strech-activated channel)、细胞骨架相关的机械感受器(cytoskeleton-related mechano sensors)和跨膜蛋白激酶都可能是植物细胞渗透感受器,参与盐胁迫下渗透胁迫信号的接受及转导(Turkan 和 Demiral,2009)。在拟南芥细胞的质膜上鉴定出一种组氨酸激酶(ATHK1,*Arabidopsis thanliana* histidine kinase 1),该酶接受外部渗透势变化并磷酸化激酶结构域中的组氨酸残基,继而把磷酸基转移给接受结构域中的天冬酰胺残基,然后引起 ABA 合成等下游信号传递(图 2-44)。

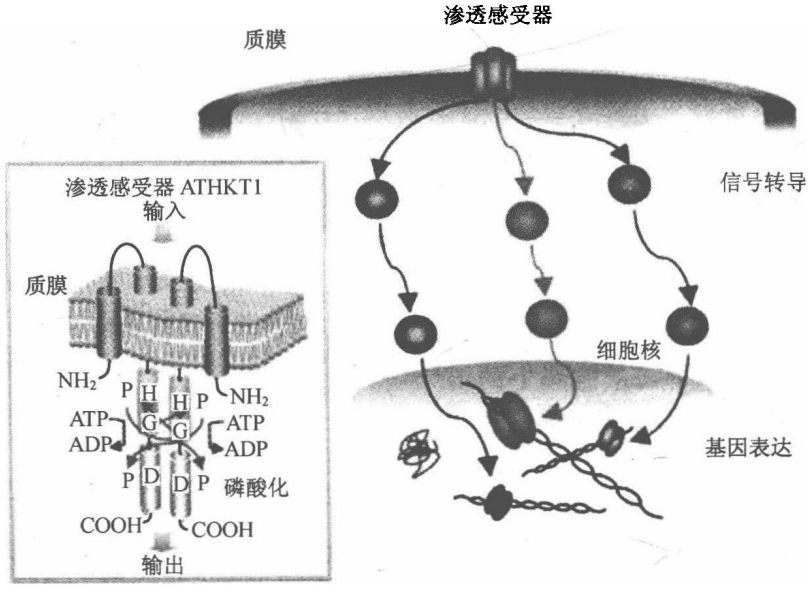


图 2-44 植物渗透受体蛋白-拟南芥组氨酸激酶(ATHK1)

(引自 Urao 和 Yamaguchi-Shinozaki,2003)

干旱胁迫主要导致植物根系失水,通过众多科学家的研究发现,当植物生长在干旱生境中,植物体内阳离子、阴离子、pH 缓冲能力、氨基酸和某些植物激素下降,唯一的例外是 ABA 的浓度大幅上升,木质部汁液中的 ABA 可增加 20~30 倍。

另外,木质部汁液中的 ABA 可以通过木质部蒸腾流向地上部分运输,可以作用于气孔,使气孔关闭。另外 Schroeder 等(1990)证明,ABA 在引起气孔关闭时,还会使保卫细胞及其他细胞质 Ca^{2+} 浓度增加,胞质 Ca^{2+} 浓度的增加,一方面可以通过 CaM(钙调蛋白)引起相应的生理生化的响应,另一方面也可以通过钙依赖的激酶传递放大信号引起相应的生理生化的响应。

胞质中游离 Ca^{2+} 作为植物细胞重要的第二信使已得到证实。植物细胞胞质中静息态的 Ca^{2+} 浓度在 10^{-7} ~ 10^{-6} mol/L,细胞壁等质外体中 Ca^{2+} 浓度在 10^{-4} ~ 10^{-3} mol/L,细胞内的液泡、内质网中的 Ca^{2+} 浓度也比胞质 Ca^{2+} 浓度高得多。因此,人们又把质外体称为胞外 Ca^{2+} 库,而把液泡和内质网称为胞内 Ca^{2+} 库。胞内、外 Ca^{2+} 库与胞质中 Ca^{2+} 存在很大的浓度差,由于胞质仅占液泡、内质网和质外体的很小一部分,因此,某种刺激引起胞内、外 Ca^{2+} 库向胞质内释放少量 Ca^{2+} 时,胞质内 Ca^{2+} 浓度就会立即大幅度上升,达到一定阈值后,继而通过钙调节蛋白等引发相应的生理生化反应,从而完成传递胞外信号的作用。等完成信号传递后,Ca^{2+} 又被迅速泵出胞外或泵入胞内 Ca^{2+} 库,胞质中游离 Ca^{2+} 浓度又回落到静息态水平,同时 Ca^{2+} 也与受体蛋白分离。大量研究表明,植物细胞受到不同胞外信号刺激(光照、盐处理、激素等)后,胞质游离 Ca^{2+} 浓度都会有一个短暂的、明显的升高,或者引起 Ca^{2+} 在细胞内的梯度分布或分布区域化发生变化,其变化的幅度和频率都不相同。不同刺激信号的特异性可能是靠 Ca^{2+} 浓度变化的不同形式而体现的。

胞质中 Ca^{2+} 的稳态(calcium homeostasis)主要是靠质膜、液泡膜和内质网膜等 Ca^{2+} 转运蛋白(Ca^{2+} translocating proteins)来维持的,某些有机酸等钙螯合物对胞质游离 Ca^{2+} 浓度也有一定的调节作用。Ca^{2+} 转运蛋白主要有 Ca^{2+} - ATP 酶,Ca^{2+} 通道和 Ca^{2+}/nH^+ 逆向转运体。植物细胞膜上 Ca^{2+} - ATP 酶主要有两种类型:ⅡA 型和ⅡB 型,不同类型的 Ca^{2+} - ATP 酶具有不同的同工酶,而且分别定位于不同细胞膜,但它们的功能均是水解 ATP 的同时把胞质中 Ca^{2+} 泵入 Ca^{2+} 库。Ca^{2+} 通道负责 Ca^{2+} 由 Ca^{2+} 库进入胞质。Ca^{2+}/nH^+ 逆向转运体则依赖于跨膜质子梯度把 Ca^{2+} 运入 Ca^{2+} 库,质膜 H^+ - ATP 酶负责跨质膜 H^+ 梯度建立,而液泡膜 H^+ - ATP 酶和焦磷酸酶负责跨液泡膜 H^+ 梯度的建立。因此,质膜和液泡膜质子泵对胞质 Ca^{2+} 稳态具有重要作用。植物细胞中 Ca^{2+} 运输系统示于图 2-45。

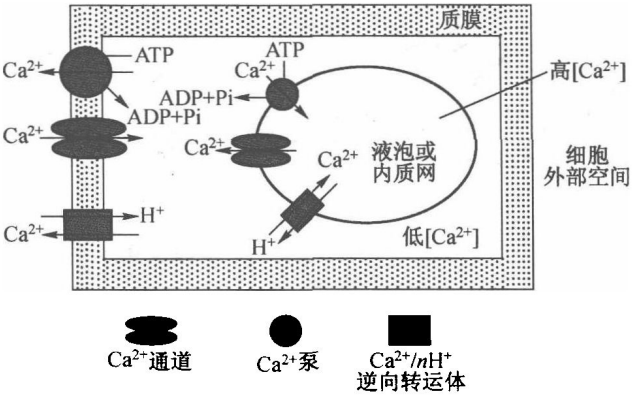


图 2-45 植物细胞钙离子运输系统

(引自王宝山等,2007)

2.7.2 离子胁迫信号的接受和传递

离子胁迫信号接受和传递的确定,较之渗透胁迫信号接受和传递研究更为困难和复杂。目前有两种观点:其一是 Na^+ 可以作为信号物质直接引起一系列生理生化的响应,其证据是,许多植物在低浓度 NaCl 处理下根系及木质部液中 ABA 浓度并没有显著升高,但其生长等已明显降低,此时根系及木质液中 Na^+ 浓度成倍增加。另一派观点是 Na^+ 通过 Ca^{2+} 及磷脂酰肌醇信号系

统起作用。但是 Na^+ 的受体还不清楚。目前认为膜蛋白(如 SOS1,SOS5)或细胞质中任何 Na^+ 敏感的酶都可以感受细胞质中 Na^+ 浓度变化,而激活细胞膜 Ca^{2+} 通道使细胞质中 Ca^{2+} 浓度迅即升高(图 2-45 和图 2-46),继而通过 SOS 途径完成信号转导(图 2-46)。朱建康等对植物盐胁迫下 SOS 途径做出了突出贡献,他们认为 SOS3 作为 Ca^{2+} 结合蛋白激活 SOS2(蛋白质激酶),后者激活 SOS1(膜 Na^+/H^+ 反向转运体)或液泡膜上的相关转运蛋白,把 Na^+ 运出细胞或区域化到液泡中,以维持细胞质离子稳态。但是,Na^+ 的受体及其信号转导的详细机制有待深入研究。

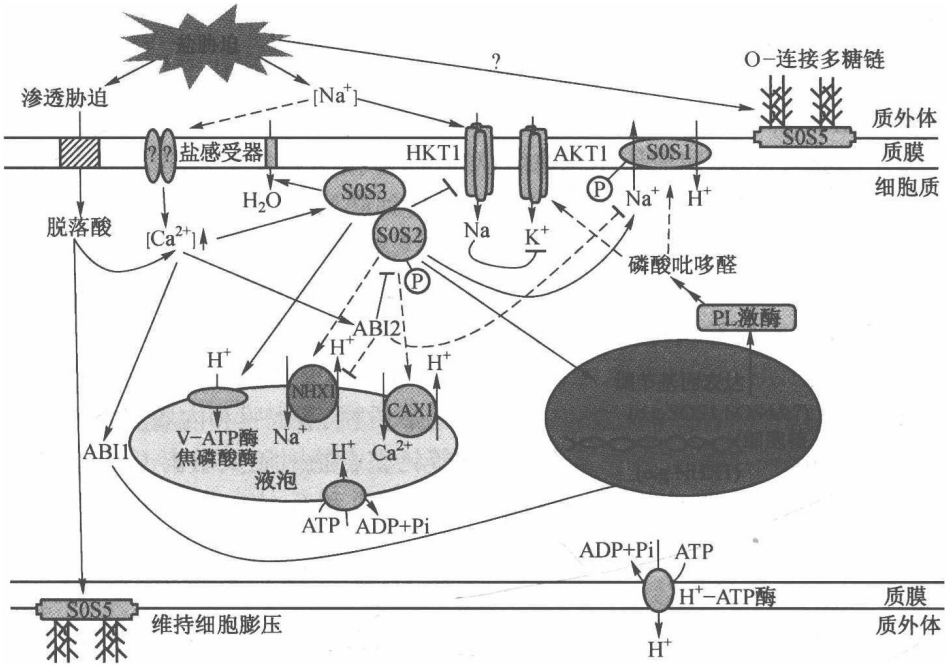


图 2-46 植物在盐胁迫下离子胁迫信号接受及转导

PL 激酶:磷酸吡哆醛激酶。(引自 Turkan 和 Demiral,2009)

2.8 植物抗盐基因工程

2.8.1 植物的抗盐性是由多基因控制的

植物的一切生理功能都是由基因控制的,植物的抗盐性是盐生植物的正常生理功能之一,当然也是由基因控制的。越来越多的事实表明,植物的抗盐性是由多基因控制的。植物的抗盐性是多种生理性状的综合表现,由位于不同染色体上的多基因控制。从植物的盐害的多种表现和植物抗盐的多种生理特性以及抗盐的多种方式,都足以证明植物抗盐性不是一个而是多个基因控制的。

盐分胁迫对植物的胁迫效应,至少包括三个方面的效应:①渗透胁迫效应;②离子胁迫效应;③由渗透胁迫和离子胁迫引起的氧化胁迫效应。因此,植物抗盐至少必须具备这三方面的适应性才可能在盐渍条件下生存。

自 20 世纪 90 年代以来,关于抗盐基因工程也主要是围绕以上三个方面进行的。即有关渗透调节溶质(主要是脯氨酸和甜菜碱)合成关键酶基因工程、离子区域化关键转运蛋白基因和抗

氧化胁迫关键酶基因工程。当然,近年来关于耐盐相关转录因子及小分子 RNA 的基因工程也取得了一定进展。

2.8.2 渗透调节溶质关键酶基因工程与抗盐性

(1) 脯氨酸合成相关基因

对脯氨酸合成关键酶基因在植物抗盐中的作用的研究是最早开展的工作。Le Rudulier (1982)首先在大肠杆菌、克雷伯氏菌的研究中发现,在 0.8 mmol/L NaCl 培养基上,这些菌丝便不能生长。在这种培养基上加入很少的甜菜碱或脯氨酸便可以消除或减轻对菌丝生长的抑制作用,具有固氮能力的克雷伯氏菌在 0.8 mmol/L NaCl 环境中中菌丝生长完全被抑制,但在培养基中加入不同浓度的甜菜碱(0.01 ~0.5 mmol/L)则随甜菜碱浓度的增加克雷伯氏菌体的生长越来越好,菌落也越来越多。而且脯氨酸对抑制生长作用的消除与甜菜碱相同。这些结果表明,既然外源脯氨酸和甜菜碱可以消除或减轻盐分胁迫的作用,那么内源脯氨酸和甜菜碱含量的增加是否可以提高抗盐能力? 这就需要在产生脯氨酸或甜菜碱能力不同的菌株上进行相关耐盐性研究。他利用 1% 浓度的蓝铃氨酸培养基筛选高产脯氨酸的鼠伤寒沙门氏菌突变菌株进行有关研究工作。

Le Rudulier 等先从具有渗透调节能力而高产脯氨酸的沙门氏菌株中纯化 DNA,用核苷酸序列专一核酸内切酶(necleotide-sequence specific endonuclease)ECRI 进行处理,然后把内切得到的 DNA 片段插入克隆载体 pBR322 质粒中去,再将这些 DNA 插入的杂交质粒引入不产生脯氨酸的大肠杆菌突变体中去,使这些引入杂交质粒的细菌生长在无脯氨酸的培养基上,这时只有脯氨酸 *BA* 基因(来自沙门氏菌的脯氨酸 *BA* 基因)的菌株在无脯氨酸培养基上能够生长,这样就得到了新的抗渗透胁迫的克隆菌株。这些含有脯氨酸合成基因的菌株对蓝铃氨酸具有抗性,说明变异杂交菌与脯氨酸合成基因密切相关。

Le Rudulier 等把得到脯氨酸 *BA* 基因的质粒的限制性内切酶图谱,进一步分析发现,在变异菌株质粒中嵌入 pBR322 DNA 的片段的总长度为 10.3 kb,脯氨酸 *BA* 基因片段长度为 4.36 kb。这是首次从微生物细胞中分离到脯氨酸合成基因,立即在全世界引起轰动,从此以后人们开始了对高等植物抗盐基因工程广泛探索,直到上个世纪 90 年代在全世界范围内掀起了植物抗逆基因工程高潮。

进一步研究表明,吡咯啉 -5 - 羧酸合成酶(Δ′-pyrroline-5-carboxylate synthetase;p5cs),又称吡咯啉 -5 - 羧酸还原酶,是脯氨酸合成的限速酶,把菜豆的该基因在烟草中过量表达,后者在非胁迫情况下脯氨酸含量增加 14 倍,其抗脱水性也显著提高,但也有许多相反报道,这方面工作没有取得突破性进展,也没有得到真正有实践应用价值的转基因抗盐植物。

(2) 甘露醇合成相关基因

高等植物中只有少数植物(如伞形科的芹菜等)在盐和干旱条件下积累甘露醇。但高等植物(参考本书图 2 -37)与大肠杆菌的甘露醇生物合成途径不同,后者由 NAD^+ 依赖的甘露醇脱氢酶催化 6 - 磷酸果糖产生 1 - 磷酸甘露醇,再在磷酸酶的作用下生成甘露醇。Tarczynsri 等(1992,1993)利用代谢工程原理,成功地将甘露醇脱氢酶基因导入烟草中,使烟草的还原碳和能量(例如 NADH)部分合成甘露醇,使转基因烟草抗盐能力大大提高,能在 250 mmol/L NaCl 溶液中完成生活史,当时也引起的巨大轰动。很可惜,国内外许多同行做了大量工作,没有重复出相

同的结果。看来转一个基因大幅度提高植物抗盐性是很难的。后来利用大肠杆菌中的 NAD^+ 依赖的甘露醇脱氢酶基因转化烟草和拟南芥,则该酶催化 6 - 磷酸果糖产生 1 - 磷酸甘露醇,后者在磷酸酶的作用下生成甘露醇。转基因拟南芥的抗盐性也有一定程度提高。

(3) 棉子糖族寡糖生物合成的关键酶基因

到目前为止,肌醇半乳糖苷已知的唯一功能就是作为棉子糖族寡糖合成的半乳糖基供体,而它又是由肌醇半乳糖合酶催化合成的。因此认为肌醇半乳糖合酶是棉子糖族寡糖(RFOs)生物合成的关键酶,而肌醇半乳糖苷的合成可能也是棉子糖族寡糖(RFOs)生物合成的关键调控步骤。

Liu 等(1998)从菜豆种子鉴定出 GOLS 转录本,当植株暴露在冷胁迫下,GOLS 在营养组织的表达丰度增加。Takahashi 等(1994)在水稻幼苗中发现一种 mRNA,随后确认为编码 GOLS,在 4 ℃和渗透胁迫时积累,但 ABA 处理没有反应。Sprenger 和 Keller(2000)说明转运 RFOs 且耐霜冻的 *Ajuga reptans* 营养组织有两个明显不同的都受冷上调的 *GOLS* 基因,其转录部位不同,GOLS1 在叶肉细胞,*GOLS2* 在韧皮部伴胞。7 个 *GOLS* 基因也在拟南芥中得到鉴定,且其中至少 3 个基因(*AtGOLS1*,*AtGOLS2* 和 *AtGOLS3*)的 mRNA 存在于成熟干燥的种子中,并分析鉴定了这 3 个基因在营养组织的表达情况,水、盐胁迫上调 *AtGOLS1*,*AtGOLS2* 的表达,冷没有作用;而 *AtGOLS3* 只在低温胁迫下诱导表达。*AtGOLS2* 的过量表达引起内源性的肌醇半乳糖苷和棉子糖的增加,降低了蒸腾,提高了转基因拟南芥的耐旱性。Downie 等从番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill. "Moneymaker")种子克隆得到 GOLS,分析了该基因在种子和幼苗中的表达,在萌发的种子 GOLS(*LeGOLS - 1*)mRNA 的积累受失水诱导,不受低温诱导;而缺水、低温都诱导 *LeGOLS - 1* 在叶中积累。*LeGOLS - 1* 在种子和叶中的表达模式与 RFOs 在植物胁迫抗性中的作用密切相关。关于棉子糖族寡糖生物合成的关键酶基因在植物抗盐性中的作用还要深入研究。

(4) 甜菜碱

与脯氨酸和甘露醇相比,近年来对甜菜碱合成酶基因工程工作进展较大。其道理也比较清楚,因为盐生植物及耐盐植物利用甜菜碱进行渗透调节及提高抗盐性,而非盐生植物(如作物玉米等)则不具有这种特性。许多转 BADH 等甜菜碱合成酶基因植物抗盐性明显提高。

2.8.3 离子区域化转运蛋白基因工程与抗盐性

(1) 膜质子泵

细胞膜 H^+ - ATPase 与液泡膜上 H^+ - ATPase 和 H^+ - PPase 主要负责建立和维持胞质(-120 ~ -200 mV)和液泡(+50 mV)的跨膜电化学势梯度,从而驱动各种溶质的次级转运。

质膜 H^+ - ATPase 由多基因家族编码,如番茄有 7 个基因,拟南芥有 10 个基因。各等位基因的表达可以特异地受到调控,这些调控因素包括时间、器官及其发育阶段、化学条件及环境诱导因子。最近对拟南芥质膜 H^+ - ATPase 基因 AHA_4 突变体 *aha4 - 1* 的研究表明质膜 H^+ - ATPase 可决定植物耐盐性。AHA_4 主要在根内皮层和花中表达。AHA_4 突变,造成 75 或 110 mmol/L NaCl 胁迫下 *aha4 - 1* 植株根及地上部分生长比野生型明显减小,并且其叶中 Na^+/K^+ 比对照增加 4 - 5 倍。这些结果也充分表明 *AHA4* 调控 Na^+ 跨内皮层流动。

植物液泡膜 H^+ - ATPase 和 H^+ - PPase 水解 ATP 和焦磷酸把 H^+ 泵入液泡产生跨膜质子梯度。植物液泡膜 H^+ - ATPase 有 13 个亚基组成,每个亚基由 1 ~ 3 个等位基因编码,而且这些基因分别位于不同染色体上。所以,关于该酶的转基因工作较少。盐胁迫激活液泡膜 H^+ - ATPase

酶活性和质子泵的 H^+ 转运能力，在液泡膜两侧建立质子梯度。这些激活包括蛋白丰度提高，动力学特征改变，亚基成分变化及表达调控的变化。

植物液泡膜 H^+ - PPase 参与 H^+ 向液泡内的转运，负责调控胞质 pH 和焦磷酸代谢。一般认为液泡膜 H^+ - PPase 由单基因编码，它的过量表达有可能增加质子驱动力从而提高植物的耐盐性。的确，异源表达拟南芥液泡膜 H^+ - PPase 恢复了盐敏感酵母突变体的耐盐性；过量表达拟南芥液泡膜 H^+ - PPase 的 *AVP1* 明显增加了转基因植株跨液泡膜质子梯度，促进了 AtNHX1 所介导的 Na^+/H^+ 逆向转运活性，将 Na^+ 区隔化至液泡，因而明显增加了转基因植株耐盐性及抗旱性。

(2) K^+、Na^+ 转运蛋白

在正常生理条件下，植物胞质 K^+ 浓度相对较高(100 ~ 150 mmol/L)，而 Na^+ 浓度相对较低(1 ~ 10 mmol/L)，有较高的 K^+/Na^+ 比。K^+ 涉及植物许多生理过程包括酶活性调节、蛋白质合成及渗透调节等，并且是唯一一种植物所必需的以相对高浓度存在的阳离子。因此，保持胞质 K^+ 浓度，使其高于一特定值，对于植物的生长及耐盐性都是非常必要的。在盐渍化土壤中，Na^+ 是一种主要的有害离子。因为许多细胞质酶活性对 Na^+ 都非常敏感，因而过高的 Na^+ 会对植物造成伤害。因此，在盐渍化土壤中，植物要想正常生长、发育并完成其生活史，必须保持一较低的胞质 Na^+ 浓度。要想保持低的胞质 Na^+ 浓度，植物细胞应限制 Na^+ 内流，增加 Na^+ 的外排，或者把其区隔化至液泡中。其大体过程为：Na^+ 通过离子通道大量“涌入”胞质，H^+ - 泵和 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白等离子跨膜转运蛋白被激活，它们协调工作以驱动 Na^+ 外排和运入液泡，最终形成胞外、胞质、液泡三者间的离子平衡。

盐渍生境中，植物细胞质膜内负外正的膜电势和胞外 Na^+ 浓度的升高建立起的 Na^+ 电化学势梯度，都有利于 Na^+ 从外界环境到植物细胞内的被动运输。虽然植物对 Na^+ 的吸收机制目前还不清楚，但 K^+ 和 Na^+ 的水合半径非常相似，运输蛋白很难把它区分开，因而各种证据均显示 Na^+ 可竞争 K^+ 跨膜运输进入细胞。

一般认为 Na^+ 运入植物细胞的途径在 2.6.5 中已经详细介绍。包括内向整流 K^+ 通道 KIRCs (K^+ inwardly rectifying channels)、外向整流 K^+ 通道 KORCs (K^+ outwardly rectifying channels) 和电压不依赖型阳离子通道 VICs (voltage-independent channels)、非选择性阳离子通道 NSCCs (non selective cation channels) 和高亲和 K^+ 运输体 (KUP - HAK：K^+ uptake transporter-high affinity K^+ transporter；HKT)，它们都参与 K^+ 运输，也控制 Na^+ 内流，是 Na^+，K^+ 内流系统调节者 (regulator)。因为 AtHKT1 主要在植物根中表达，因而它也可能控制 Na^+ 进入木质部进而控制 Na^+ 向地上部分的运输。用分子克隆技术已使若干与植物钾、钠转运有关的基因得以克隆，相关基因见表 2 - 23。

表 2 - 23 与植物钾转运相关基因及其功能(引自王宝山等，2002)

基因名称	植物来源	功 能
AKT1	拟南芥	钾通道基因，负责低亲和 K^+ 吸收或者是双亲和 K^+ 吸收
KAT1	拟南芥	钾通道基因，介导 K^+ 的累积和转运，调节气孔细胞的渗透压控制气孔的运动
HKT1	小麦	钾载体基因，介导高亲和 K^+ 吸收以和 K^+/Na^+ 共运转，可能增强 Na^+ 替代 K^+ 的能力
KST1	马铃薯	钾通道基因，介导 K^+ 的累积和转运，调节气孔细胞的渗透压控制气孔的运动
AtKUP1	拟南芥	双亲和 K^+ 吸收载体基因
HAK1	大麦	钾载体基因，介导高亲和 K^+ 吸收和 K^+/Na^+ 共运转，可能增强 Na^+ 替代 K^+ 的能力
KCO1	拟南芥	钾通道基因，调控木质部液的 K^+ 浓度，参与 K^+ 从根向地上部分的长距离运输

Na^+从细胞内排出需要逆着其电化学势转运，是一个主动运输的过程。某些海藻的质膜上存在 Na^+ - ATPase，水解 ATP 驱动 Na^+向胞外运输。Shono 等(2001)第一次在低等植物细胞金藻(*Heterosigma akashiwo*)用 RACE 技术从 cDNA 克隆得到 *H. akashiwo* Na^+ - ATPase 基因 *HANA*，该基因编码 1 330 个氨基酸的多肽，和 Na^+/K^+ ATPase 的 a - 亚基有 40% 的同源性。目前，在高等植物中还没发现 Na^+ - ATPase 的存在。

高等植物的排 Na^+机制主要与质膜 Na^+/H^+逆向转运蛋白有关，质膜 H^+ - ATPase 水解 ATP 产生能量把 H^+从细胞质中泵出细胞，产生跨质膜 H^+电化学势梯度，驱动质膜上的 Na^+/H^+逆向转运蛋白，使 H^+顺其电化学势进入细胞，同时 Na^+逆其电化学势排出细胞。现在，质膜 Na^+/H^+逆向转运蛋白活性已在许多高等植物中检测到。大洋洲滨藜(*Atriplex nummularia*)质膜逆向转运体活性随 NaCl 浓度的升高而增强。目前研究比较深入的质膜 Na^+/H^+逆向转运蛋白为拟南芥的 SOS1(Salt Over Sensitive 1)。SOS1 为相对分子质量为 127×10^3 的多肽，其 N - 末端有 12 个跨膜区，C - 末端有一个长的亲水尾巴。SOS1 跨膜区与细菌及真菌质膜 Na^+/H^+逆向转运体有非常高的序列相似性。对 *sos1* 突变体大量等位基因进行序列分析发现 SOS1 的跨膜区及亲水尾部对于植物耐盐性都非常重要。最近对 *AtSOS1* - promoter - GUS 转基因拟南芥进行分析发现 *SOS1* 主要在根尖表皮细胞和根茎叶木质部或共质体边界薄壁细胞中表达。在拟南芥中过量表达 *AtSOS1* 明显增加了植物的耐盐性，进一步证明 *SOS1* 及 Na^+外排对于植物耐盐性的重要作用。

无论是盐生植物还是非盐生植物细胞质的酶都对 Na^+非常敏感。为了把胞质内的 Na^+保持在非毒性水平，许多植物把 Na^+区隔化入液泡。Na^+区隔化至液泡，一方面减少了胞质 Na^+浓度，避免胞质过高 Na^+对生理代谢的干扰；另一方面减小了植物细胞的水势，促进植物从外界吸水，从而有利于植物在盐渍化土壤中的生存。这种作用一般认为是通过液泡膜上的 Na^+/H^+逆向转运体完成的。对液泡膜上 Na^+/H^+逆向转运蛋白的研究始于酵母。Nass(1997)在筛选酵母的 Calcineurin 突变体(cnb1)的抑制子时发现了一个与耐盐性有关的新基因 *NHX1*，它编码 Na^+/H^+逆向转运蛋白，定位于前液泡膜和液泡膜上负责 Na^+的区隔化。多方面的证据证明酵母中去除 Na^+毒害的机制可能与植物相同。

自第一次在甜菜贮藏组织的液泡膜囊泡检测到液泡 Na^+/H^+逆向转运蛋白的活性后，已在许多植物如甜菜、冰叶日中花、碱蓬等中检测到液泡膜 Na^+/H^+逆转运活性。拟南芥基因组测序鉴定出与酵母 *NHX1* 非常相似的 *AtNHX1*，随之，水稻、冰叶日中花、碱蓬等高等植物液泡膜 Na^+/H^+逆向转运蛋白基因相继克隆，分别为 *OsNHX1*、*McNHX1*、*SsNHX1*。用 TMpred 软件分析 *OsNHX1*、*SsNHX1* 序列，可推测到 12 个跨膜区域，这些跨膜区高度保守，对 Na^+/H^+逆向转运蛋白的转运功能非常重要。

Apse 等(1999)在拟南芥中过量表达 *AtNHX1* 基因发现：转基因植株液泡膜 Na^+/H^+逆向转运活性比野生型植株要高得多，并且这种 Na^+/H^+逆向转运蛋白活性的升高和 AtNHX1 蛋白表达量增加是一致的，在 200 mmol/L NaCl 胁迫条件下，转基因植株的生长未受影响。提高的液泡膜 Na^+/H^+逆向转运蛋白运活性伴随着液泡中区隔化的 Na^+浓度的升高，有力地支持了 Na^+区隔化在耐盐中的作用。利用基因工程手段，Zhang 等(2001a，b)在番茄，油菜中过量表达 AtNHX1 - Na^+/H^+逆向转运蛋白，得到了世界上第一批真正意义上的耐盐作物，用 200 mmol/L NaCl 溶液浇灌转基因植株，仍可正常生长并结实。

2.8.4 植物抗氧化酶基因工程与抗盐性

高等植物的抗氧化系统由酶促抗氧化系统和非酶促抗氧化系统组成,前者称为抗氧化酶,后者称为抗氧化剂。

非酶促抗氧化剂主要是一些低相对分子质量的化合物,主要包括维生素 E(生育酚)、维生素 C(抗坏血酸,AsA)、β-胡萝卜素(CAR)、还原型谷胱甘肽(GSH)、类黄酮(FLA)、黄酮醇、生物碱(ALK)、多元醇(如甘露醇)等,植物细胞中每种非酶促抗氧化剂都有一系列酶催化合成。通过基因工程手段提高非酶促抗氧化剂含量来提高抗盐性工作较少。

酶促抗氧化系统为植物体提供了高效而专一的 ROS 清除体系,抗氧化酶主要包括过氧化物酶(peroxidase,POD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GPX)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase,APX)、SOD、过氧化氢酶(catalase,CAT)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase,GR)、脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase,DHAR)、单脱氢抗坏血酸还原酶(monodehydroascorbate reductase,MDAR)、谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione S-transferases,GST)等,这些酶所催化的反应及其功能参考本书表 1-1。近年来关于过表达编码抗氧化酶基因提高植物抗逆性做了大量研究,特别是 SOD 和 APX 的工作较多。如 Bowler 等 1991 年过量表达烟草(*Nicotiana plumbagnifolia*)的线粒体 Mn-SOD 可提高另一种烟草(*Nicotiana tabacum*)的抗氧化胁迫的能力,将 cAPX 过量表达于烟草叶绿体中提高了转基因烟草的耐盐和耐旱性(Badawi 等,2004)。类似的转基因工作还有很多,结果也不尽一致,都没有大幅度提高转基因植物的耐盐性。这也不难理解,一方面植物抗盐是多基因控制的。另一方面,酶促和非酶促抗氧化系统并不是孤立的,而是相互联系,相互作用,彼此构成一个复杂的抗氧化网络。高等植物不同的细胞器都有特异的 ROS 清除系统,能够高效的清除该部位产生的 ROS,尤其是在各种胁迫条件下,不同清除系统的相互协调作用为植物细胞清除 ROS 提供了一个高效率的体系。所以,转单一抗氧化酶基因很难达到目的。

2.8.5 植物抗盐基因工程值得思考的问题

利用遗传工程培育耐盐品种是一项非常复杂的工程,它涉及多个学科,因此这不是一个学科所能完成的。植物生理学家要将植物抗盐生理背景提供给遗传工程学家,遗传工程学家在此基础上分离和克隆抗盐基因,将抗盐基因转入到不抗盐的但有重要经济价值的植物中,并让这种基因性状充分表达,并能遗传到后代,这样才能完成植物抗盐品种的选育。植物生理学家还要研究这些抗盐基因的功能。

作为植物生理学,今后应致力于植物耐盐生理的分子基础的研究,要澄清耐盐植物和盐敏感植物,即耐盐与不耐盐的分子生理基础差异是什么?例如耐盐细胞的关键酶、关键代谢反应、具体反应部位等,如能把这些问题澄清,提供给遗传学家,则遗传工程的工作就可能更有效。遗传学家应当从控制耐盐性关键代谢因子分离克隆出关键抗盐基因,近来有一些人提出他们已成功分离出抗盐基因,到目前已经克隆出数十种抗盐应答基因,认为都是抗盐基因,理由是它们与抗盐性有关。但是,作为植物的一个功能特性的抗盐性,植物体中与其有关的因子太多了,那么,关键因子是什么?这种基因与植物抗盐性的关系如何?如果细胞丢掉这个因子,抗盐性受到什么影响?这些问题一定要弄清楚。

植物耐盐性是由位于不同染色体上的多基因控制的，转入一个或两个基因不能解决根本问题，应当同时研究如何导入多基因问题，采用染色体置换、附加染色体方法、细胞不对称性融合等手段提高植物的耐盐性。另外，对盐生植物的 cDNA 基因库图谱的全面研究，逐个基因进行功能分析，确定抗盐基因的数目，每一种抗盐基因的功能，都一一研究清楚，那时，转基因植物就有可能获得了。

在目前情况下，利用盐胁迫诱导的组织专一性高效启动子，对 Na^+、K^+ 等离子转运体基因进行操作，使转基因植物在盐胁迫下保持细胞 Na^+/K^+ 稳态，可能是转基因提高植物抗盐性的方向之一。其次关于盐胁迫中有关信号转导元件，如接受盐分胁迫的受体基因及其盐胁迫信号转导途径上游抗盐关键基因（如转录因子）的转基因工作也是重要方向。

第三，关于自由基清除关键酶，特别原位清除酶基因工程也是值得探讨的。

近年来，越来越多的事实表明某些非编码小 RNA 在植物抗盐中也可能具有重要作用。

总之，虽然植物抗盐性是一个十分复杂的问题，是多基因控制的，但随着抗盐分子机理研究的不断深入，人们一定会利用现代生物技术培育出抗盐性强的优质作物新品种。

主要参考文献

1 丁烽，王宝山．NaCl 对中华补血草叶片盐腺发育及其泌盐速率的影响，西北植物学报．2006，26（8）：1593～1599.

2 丁顺华，李艳艳，王宝山．外源海藻糖对小麦幼苗耐盐性的影响．西北植物学报．2005，25（3）：513～518.

3 王宝山．植物生理学．2 版．北京：科学出版社，2007.

4 李平华．盐胁迫下盐地碱蓬液泡膜质子泵表达分析及过量表达 *SsNHX1 – AVP1* 对拟南芥耐盐性的影响．济南：山东师范大学博士论文，2003.

5 李伟强，刘小京，毛任钊，等．植物种子二形性（多形性）研究进展．生态学报，2006，26：1233～1242.

6 陈敏，李平华，王宝山．Na^+ 转运体与植物抗盐性．植物生理学通讯，2007，43（4）：617～621.

7 陈敏，王宝山．植物质膜 H^+ – ATPase 响应盐胁迫的分子机制．植物生理学通讯，2006，42（5）：805～811.

8 邵群，丁同楼，韩宁，王宝山．高亲和 K^+ 转运载体（HKT）与植物抗盐性．植物生理学通讯，2006，42（2）：175～181.

9 赵可夫．植物抗盐生理．北京：中国科学技术出版社，1993.

10 赵可夫，李法曾．中国盐生植物．北京：科学出版社，1999.

11 赵可夫，范海．盐生植物及其对盐渍生境的适应生理．北京：科学出版社，2005.

12 赵可夫，冯立田．中国盐生植物资源．北京：科学出版社，2001.

13 简令成，王红．逆境植物细胞生物学．北京：科学出版社，2008.

14 周峰．NaCl 胁迫对碱蓬 K^+ 吸收及质膜 H^+ – ATPase 活性的效应．山东师范大学硕士论文，2003.

15 杨美娟．盐胁迫对中亚滨藜营养器官内部结构的影响及其盐囊泡发育过程研究．山东师范大学硕士论文，2005.

16 庞彩红．不同浓度 NaCl 处理对盐地碱蓬叶片中 CAT、GR 和 GST 的影响．山东师范大学硕士论文，2004.

17 蔡蕾，丁同楼，王宝山．外源 GA_3、ABA 和 $Ca(NO_3)_2$ 缓解盐对小麦种子萌发的抑制作用．西北植物学

报,2004,24(4):583~587.

18 Adams P,*et al.* The halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* L. ,the ice plant,serves as a model system to study plant responses to salt stress. Physiol Plant,1998,110(3):402~409.

19 Amtmann A,Sanders D. Mechanisms of Na^+ uptake in plant cells. Advances in Botanical Research,1999(29):75~112.

20 Apse M P,Aharon G S,Snedden W A,*et al.* Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiport in *Arabidopsis*. Science,1999,285:1256~1258.

21 Arise W H,Camphuis I J,Heikens H,*et al.* The secretion of the salt glands of *Limonium latifolius* Ktze. Acta Botanica Neerlandica,1955.

22 Aronson J. Halophytes:A data base of salt tolerant plant of the world. Tucson,Arizona,USA:University of Arizona,1989.

23 Asada K. The water-water cycle in chloroplasts:scavenging of active oxygens and. dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,1999,50:601~609.

24 Ayers,A D,Brown J W,Wadleigh C H. Salt tolerance of barley and wheat in soil plots receiving several salination regimes. Agron. J. 1952,44:307~310.

25 Berry,W L. Characteristics of salts secreted by *Tamarix aphylla*. Am. J. Bot. ,1970,57:1226~1230.

26 Bowler C,Slooten L,Vandenbranden S,*et al.* Manganese superoxide dismutase can reduce cellular damage mediated by oxygen radicals in transgenic plants. EMBO J,1991,10:1723~32.

27 Breckle S W. How do halophytes overcoe salinity? In:Khan MA,Ungar IA,eds. Biology of Salt-Tolerant plants. Chelsea,Michigan,USA,1995.

28 Cramer G R,Bowman D C. Kinetics of maize leaf elongation:I. Increased yield threshold limits short-term steady-state elongation rates after exposure to salinity. J Exp Bot,1991(42):1417~1426.

29 Chen M,Song J,Wang B S. NaCl increases the activity of plasma membrane H^+ - ATPase in $1C_3$ halophyte Sueada salsa callus. Acta Physiologiae Plantarum,2009,DOI 10. 1007/s11738-009-037-1.

30 Davenport R J,Munoz-Mayor A,Jha D,*et al.* The Na^+ transporter AtHKT1;1 controls retrieval of Na^+ from the xylem in *Arabidopsis*. Plant Cell and Environment,2007,30:497~507.

31 Demidchik V,Maathuis F J M. Physiological roles of nonselective cation channels in plants:from salt stress to signalling and development . New Phyt,2007,175:387~404.

32 Ding F,Chen M,Sui N,*et al.* Ca^{2+} significantly enhanced development and salt-secretion rate of salt glands of *Limonium bicolor* under NaCl treatment. South African Journal of Botany,2009.

33 Ding F,Song J,Ruan Y,*et al.* Comparison of the effects of NaCl and KCl at the roots on seedling growth,cell death and the size,frequency and secretion rate of salt glands in leaves of *Limonium sinense*. Acta Physiol Plant,2009,31:343~350.

34 Dietz K J,Tavakoli N,Kluge C,*et al.* Significance of the V-ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level. J Exp Bot,2001,52:1969~1980.

35 Flowers T J,Hajibagheri M A,Clipson N J W. Halophytes. The Quanterly Review of Biology,1986,61:313~337.

36 Flowers T J,Colmer T D. Salinity tolerance in halophytes. New Phytologist,2008,179:945~963.

37 Gao X H,Ren Z H,Zhao Y X,*et al.* Overexpression of SOD2 increases salt tolerance of Arabidopsis. Plant Physiol,2003,133:1~9.

38 Garg B K,Venkateswarlu B,Vyas S P,*et al.* Nodulation and N_2 - ase activity in clusterbean and mothbean under salt stress. Indian J Exp Biol,1984(22):511~512.

39 Greenway H,Munns R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. Annu Rev Plant Physiol,1980(31):49~90.

40 Greenway H, Munns R. Interaction between growth, uptake of Cl^- and Na^+, and water relations of plants in saline environments: II. Highly vacuolated cells. Plant Cell Environ, 1983(6): 575 ~ 589.

41 Gaxiola R A, Li J, Undurraga S, *et al.* Drought-and salt-tolerant plants result form overexpression of the AVP1 H^+ - pump. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98: 11444 ~ 11449.

42 Hanson A D, Hitz W D. Proline accumulation and the adaptation of cultured plant cells to water stress. Plant Physiol, 1982(80): 938 ~ 945.

43 Horie T, Yoshida K, Nakayama H, *et al.* Two types of HKT transporters with different properties of Na^+ and K^+ transport in *Oryza sativa*. The Plant Journal, 2001, 27(2): 129 ~ 138.

44 Hoffman G T, Phene C J. Effect of constant salinity on water use efficiency of bean and cooton. Trans. Am. Soc. Agric. Eng., 1971(14): 1103 ~ 1106.

45 Keiffer C H, Ungar I A. The effect of extened exposure to hypersaline conditions on the germination of five inland halophyte species. Am. J. Bot., 1997(84): 104 ~ 111.

46 Jennings P G. The Tardigrada of Signy Island, South Orkney Islands, with a note on the Rotifera. Br Antract Surv Bull, 1976, 44: 125.

47 Khan M A, Webber D J, Hess W M. Elemental distribution in seeds of the halophytes *salicornia pacifica* Var. Utahensis and *Atriplex canescens*. Am. J. Bot., 1985(72): 1672 ~ 1675.

48 Kluge C, Lahr J, Hanitzsch M, *et al.* New insight into the structure and regulation of the plant vacuolar H^+ - ATPase. JOBB, 2003, 35: 377 ~ 388.

49 Kluge C, Golldack D, Dietz K J. Subunit D of the vacuolar H^+ - ATPase of *Arabidopsis thaliana*. Biochim Biophys Acta, 1999, 1419: 105 ~ 110.

50 Kunkel J G, Gordeiro S, Xu Y, *et al.* Use of non-invasive ion-selective microelectrodetechnique fro the study of plant development. In AG Volkov ed, Plant Electrophysiology-Theory and Methods. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag. 2006, 109 ~ 137.

51 Kramer D, Anderson W P, Preston J. Transfer cells in the root epidermis of *Atriplex hastata* L. as a response to salinity: a comparative cytological and x-ray microprobe investigation. Aust. J. Plant Physiol, 1978(5): 739 ~ 747.

52 Lauchli A. Salt exclusion: An adaptation of legumes for crops and pastures under saline conditions. In: Staples RC, Toenniessen GH, eds. Salinity Tolerance in Plants. Strategies for Crop Improvement. New York: John Wiley and Sons. 1984, 171 ~ 187.

53 Lauchli A, James R A, Huang C X, *et al.* Cell-specific localization of Na^+ in roots of durum wheat and possible control points for salt exclusion. Plant Cell and Environment, 2008(31): 1565 ~ 1574.

54 Lauchli A., Epstein E. Plant responses to saline and sodic conditions, // Tanji, K K. Agriculture Salinity Assessment and anagement, American Society of Civil Engineering, 1990, 113 ~ 137.

55 Le Houérou H N. Salt tolerant plants for the arid regions of the Mediterranean isoclimatic zone. // Lieth H, Al Masoom A. Towards the rational use of high salinity tolerant plants, vol 1. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993.

56 Li Y, Zhang S R, Song J, *et al.* Chlorophyll in desiccated seeds of a euhalophyte, *Suaeda physophora*, and its significancy in plant adaptation to salinity during germination. Sci. China Ser. C, 2008(51): 410 ~ 417.

57 Liu J, Zhu J K. A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance. Science, 1998, 280: 1943 ~ 1945.

58 Maeshima M. Vacuolar H^+ - pyrophosphatase. Biochim Biophys Acta, 2000, 1465: 37 ~ 51.

59 Matsushita N, Matoh T. Characterization of Na^+ exclusion mechanism of salt tolerant reed plants in comparision with salt sensitive rice plants. Physiol Plant, 1991, 83: 170 ~ 176.

60 Nass R, Cunningham K W, Rao R. Intracellular sequestration of sodium by a novel Na^+/H^+ exchanger in yeast

is enhanced by mutations in the plasma membrane H^+ – ATPase: insights into mechanisms of sodium tolerance. J Biol Chem, 1997, 272: 26145 ~ 26152.

61 Niu X M, Zhu J K, Narasimhan M L, *et al.* plasma membrane H^+-ATPase gene expression is regulated by NaCl in cells of the halophyte *Atriplex nummularia* L. Planta, 1993a, 190: 433 ~ 438.

62 Niu X M, Narasimhan M L, Salzman R A, *et al.* NaCl regulation of plasma membrane H^+ – ATPase gene expression in a glycophyte and a halophyte. Plant Physiol, 1993b, 103: 713 ~ 718.

63 Palmgren M G. Plant plasma membrane H^+ – ATPase: Powerhouses for nutrient uptake. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 2001, 52: 817 ~ 861.

64 Qi C H, Chen M, Song J, *et al.* Increase in aquaporin activity is involved in leaf succulence of the euhalophyte *Suaeda salsa*, under salinity. Plant science, 2008, 173: 200 ~ 205.

65 Bernstein L, Ogata G. Effects of salinity on nodulation, nitrogen fixation, and growth of soybeans and alfalfa. Agron. J. 1966, 58: 201 ~ 203.

66 Qiu N W, Chen M, Guo J R, *et al.* Coordinate up-regulation of V – H^+ – ATPase and vacuolar Na^+/H^+ antiporter as a response to NaCl treatment in a C_3 halophyte *Suaeda salsa*. Plant science, 2007, 2: 1218 ~ 1225.

67 Ren Z H, Gao J P, Li L G, *et al.* A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. Nature Genentics. 2005, 37: 1141 ~ 1146.

68 Rolletschek H, Weber H, Borisjuk L. Energy status and its control on embryogenesis of legumes: embryo photosynthesis contributes to oxygen supply and is coupled to biosynthetic fluxes. Plant Physiol. 2003 (132): 1196 ~ 1206.

69 Shi H, Ishitani M, Kim C, *et al.* The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene *SOS*1 encodes a putative Na^+/H^+ antiporter. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 6896 ~ 6901.

70 Song J, Fan H, Zhao YY, *et al.* Effect of salinity on germination, seedling emergence, seedling growth and ion accumulation of a euhalophyte *Suaeda salsa* in an intertidal zone and on saline inland. Aqua. Bot. 2008 (88): 331 ~ 337.

71 Song J, Feng G, Li ZK, *et al.* Effects of salinity and scarifying seed coat on ion content of embryos and seed germination for *Suaeda physophora* and *Haloxylon ammodendron*. Seed Sci. Technol., 2007 (35): 615 ~ 623.

72 Song J, Feng G, Tian C Y, *et al.* Strategies for adaptation of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* to saline environment during seed germination stage. Ann. Bot. 2005 (96): 399 ~ 405.

73 Stogonov B P. Physiological basis of salt tolerance of plants (as affected by various types of salinity). Israel Progress Sci Transl, 1964.

74 Tester M, Davenport R. Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants. *Annals of Botany*, 2003 (91): 503 ~ 507.

75 Turkan I, Demiral T. Recent developments in understanding salinity tolerance. Environmental and Experimental Botany, 2009, 67: 2 ~ 9.

76 Ungar I A. Halophyte seed germination. Bot. Rev., 1978 (44): 233 ~ 263.

77 Urao T, Yamaguchi-Shinozaki K, JIRCAS Newsletter. 2003, 101.

78 Vassilyev A E, Stepanova A A. The ultrastructure of ion-secreting and non-secreting salt gland of *Limonium platyphyllum*. J Exp Bot. 1990, 41: 41 ~ 46.

79 Vitart V, Baxter I, Doerner P, *et al.* Evidence for a role in growth and salt resistance of a plasma membrane H^+ – ATPase in the root endodermis. Plant J, 2001, 27: 191 ~ 201.

80 Volkov V, Amtmann A. *Thellungiella halophila*, a salt-tolerant relative of *Arabidopsis thaliana*, has specific root ion-channel features supporting K^+/Na^+ homeostasis under salinity stress. Plant J, 2006, 48: 342 ~ 353.

81 Wang B S, Lüttge U, Ratajczak R. Effects of salt treatment and osmotic stress on V-ATPase and V – PPase in leaves of the halophyte *Suaeda salsa*. Journal of Experimental Botany, 2001, 52(365): 1 ~ 11.

82 Wang B S, Ratajczak R, Zhang J H. Activity, amount and subunit composition of vacuolar-type H^+ – ATPase and H^+ – PPase in wheat roots under severe NaCl stress. Journal of Plant Physiology, 2000, 157: 109 ~ 116.

83 Waisel Y. Biology of halophytes. New York: Academic Press, 1972.

84 Winter E. Salt tolerance of *Trifolium alexandrinum* L. Ⅲ. Effect of salt on untrastructure of phloem and xylem transfer cells in petioles and leaves. Aust J Plant Physiol, 1980, 9: 239 ~ 250.

85 Weber H, Borisjuk L, Wobus U. Molecular physiology of legume seed development. Annu. Rev. Plant Biol. 2005 (56): 253 ~ 79.

86 Wu L, Fan Z, Guo L, *et al.* Overexpression of the bacterial *nhaA* gene in rice enhances salt and drought tolerance. Plant Sci, 2005, 168: 297 ~ 302.

87 Yang Y L, Guo J K, Zhang F, *et al.* NaCl induced changes of the H^+ – ATPase in root plasma membrane of two wheat cultivars. Plant Sci, 2004, 166: 913 ~ 918.

88 Zhang H X, Blumwald E. transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage not in fruit. Nat. Biotechnol, 2001a(19): 765 ~ 768.

89 Zhang H X, Hodson J N, Williams J P, *et al.* Engineering salt *Brassica* plants with increased vacuolar sodium accumulation. PNAS, 2001b(98): 12832 ~ 12836.

思考题

1. 盐生植物与非盐生植物有何异同？请解释盐生植物抗盐的可能原因。
2. 植物细胞对 Na^+、K^+ 吸收的特点是什么？阐述 NaCl 胁迫下植物在细胞、组织和器官水平上维持 Na^+、K^+ 稳态的机制及其与植物抗盐性的关系？
3. 植物细胞离子稳态指什么？NaCl 胁迫下植物细胞如何维持细胞质 Na^+、K^+ 稳态？
4. 你认为今后植物抗盐机理及抗盐基因工程应向哪些方面发展？为什么？
5. 植物细胞在高盐胁迫下的信号转导途径有什么特点？

3 干旱逆境植物生物学

从广义上来讲,水分逆境(water stress)包括水分过少(干旱)和水分过多(洪涝),两者均对植物生命活动产生伤害,但通常情况下,或狭义地讲,水分胁迫(逆境)是指干旱。

在各种非生物环境胁迫因子中,干旱是导致作物产量下降最主要的环境胁迫因子。干旱对作物产量的影响在各种非生物的环境胁迫因子中占首位,仅次于生物胁迫即病虫害所造成的损失。据统计,全球干旱、半干旱地区约占土地总面积的36%,占耕地面积的43%(陈善福,1999)。在我国,干旱和半干旱地区约占国土面积的1/2,尤其是在我国的西部和北部地区,年降水量少,且季节分配不均,受到严重的干旱威胁,这也是造成西部经济滞后的一个重要原因之一。干旱不仅引起作物减产,并且致使生态环境日益恶化,引起生态危机。目前由于干旱引起的河流干涸、土地沙化、沙尘暴频发、湖泊湿地萎缩、草地退化、森林锐减、生物量和生物多样性急剧下降等一系列生态环境问题,已经严重威胁到人类社会的可持续发展,并引起了全社会的关注。干旱作为影响植物正常代谢和生长发育的最主要的非生物胁迫因子之一,对我国的农业发展、生态环境建设和城市绿化建设造成严重的阻碍。干旱在我国普遍发生,我国每年由于缺水造成国民经济损失达2 000多亿元。因此,研究植物的抗旱机理,提高植物的抗旱能力、培育干旱耐受性的植物新品种已经成为当前农业生产中的一个迫切问题。

3.1 水的结构和性质

水分是地球上一切生命的源泉,没有水就没有生命。生命起源于水,并在代谢中依赖于水,这一切都是与水分的性质及作用密不可分的。

3.1.1 水的分子结构特性

水分子由1个氧原子和2个氢原子以**共价键**(covalent bond)结合呈"V"型结构,2个O-H键间的平均夹角约为105°(图3-1)。因氧原子的质子数比氢原子的多,共价键中的一对电子偏向于O原子,这使得H_2O分子中氧原子一端带部分负电荷,H原子一端带部分正电荷。使水分子成为极性分子(polar molecule)。在相邻水分子间,带部分负电荷的氧原子与带部分正电荷的氢原子以静电引力相互吸引形成**氢键**(hydrogen bond)。氢键是一种比较弱的键,键能约为20 kJ·mol^{-1},而共价键和离子键的键能一般在1摩尔几百千焦,但氢键要比范德华力(大约

4 kJ · mol^{-1})的键能大。正因为水分子之间存在氢键,使得部分水分子缔合成水分子聚合体$(H_2O)_n$,即常常以缔合分子的形式存在。在液态水中缔合分子与单分子处于平衡状态,缔合是放热过程,解离是吸热过程。高温时水主要以单分子状态存在;温度降低时水的缔合程度增大,0 ℃时全部水分子缔合在一起,形成一个巨大的缔合分子。

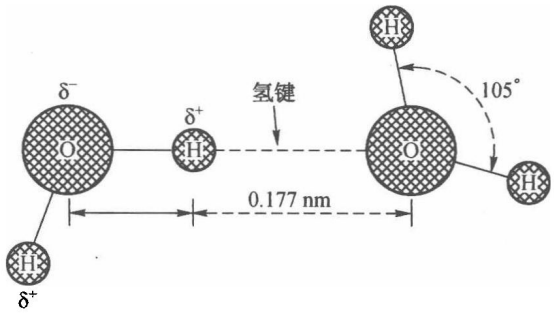


图 3-1 水分子的结构和氢键

(引自王宝山,2007)

3.1.2 水的沸点

通常,一种物质的相对分子质量越大,则其沸点越高,即在一定温度下越趋于呈现固态或液态,如甲烷(CH_4)、乙烷(C_2H_6)、丙烷(C_3H_8)、正丁烷(C_4H_{10})的相对分子质量分别是 16、30、44 和 58,在室温下它们都是气体,正戊烷相对分子质量是 72,其沸点增至 36 ℃。但从图 3-2 可见,H_2O 的相对分子质量虽然只有 18,低于同族氢化物 H_2S、H_2Se、H_2Te、H_2Po 的相对分子质量,但其沸点却高达 273.15 K(100 ℃),远高于其他几种同族氢化物,其原因就在于氢键的存在使水结合为缔合分子,相当于扩大了水的相对分子质量,要使水分子间的氢键破坏,使各分子分离开来呈气态,就必须提供较多的能量,即提高温度。如果水中没有氢键形成缔合分子,那么水在 193 K(−80 ℃)就会沸腾,如此常温下水即处于沸腾状态,生命就不可能存在于水中了。

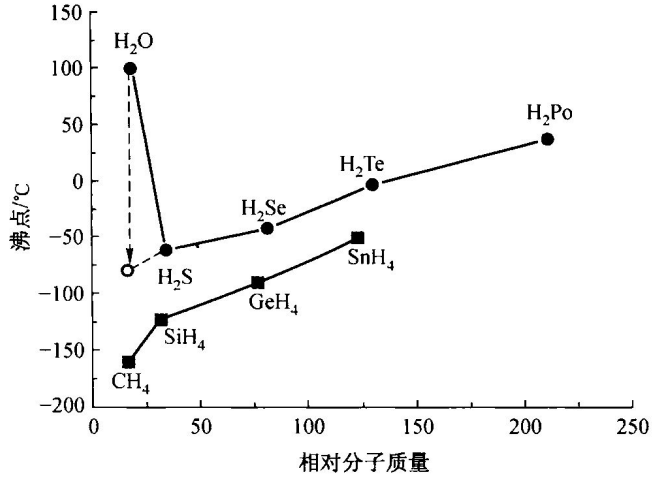


图 3-2 氢化物沸点的比较

3.1.3 水的比热

在自然界所有的物质中,水的比热是最大的,达 4.18 J · g^{-1} · K^{-1},这是由水分子的极性和分子间氢键的存在决定的,从而使 1 mL 水升高 1 ℃需要更多的热量,或 1 mL 水下降 1 ℃释放更多的热量。这意味着植物要吸收或释放很多的热量才会引起温度的很小波动,从而使水分起到一种热的缓冲作用,这有助于维持植物体温的恒定。

3.1.4 水的汽化热

在自然界所有的液体中，水的汽化热也是最大的（25 ℃时为 44 kJ · mol^{-1}），这意味着每当水分以水蒸气的形式散发时，就会带走大量的热量，这有助于保护夏日处于炎热日照下的植物。在外界高温高光强下，植物叶片通过蒸腾作用耗散水分的同时，会带走叶片的大量热量，从而防止叶片被太阳炙干。有人实验发现，夏天能进行蒸腾作用的叶片的温度要比不能进行蒸腾作用的叶片的温度低 4 ℃左右。

3.1.5 水产生的内聚力、黏附力和表面张力

液体状态下同类分子间的相互吸收力叫**内聚力**（cohesion），液相与固相间的相互吸收力叫**黏附力**（adhesion）。若水与某物质的黏附力大于水的内聚力，则水可吸附在该物质上，该物质即为可湿的，或可浸润的；反之则不可湿或不可浸润。如水可浸润土壤（SiO_3^{2-}）、滤纸、CO_3^{2-}，SO_4^{2-} 等，而不可浸润石蜡、石墨等。**表面张力**（surface tension）是指存在于空气 - 水界面的使液体表面保持紧张状态的力量。由于水分子内聚力、黏附力和表面张力的共同作用而使水分在毛细管中上升一段距离，这称为毛细作用（capilarity）（图 3 - 3）。在毛细现象中水分上升的高度与管道的半径成反比，$h = 1.49 \times 10^{-5}/r$。正是由于毛细作用的存在，从而使：①土壤下层的水分可通过毛细作用上升，供植物利用。②细胞壁的纤维素微纤丝间有空隙，形成很多小而弯曲的毛细管，这样可使植物的细胞壁通过毛细作用保持湿润。③蒸腾时气孔下腔细胞间的毛细管产生的蒸腾拉力是水分上升的主要动力。

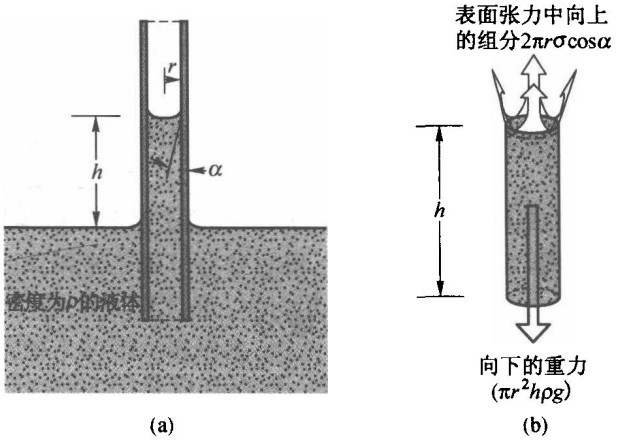


图 3 - 3 水的毛细作用示意图

（a）毛细作用的产生；（b）毛细作用中力的平衡。由于水与玻璃间的黏附力大于水的内聚力，从而使水分吸附在玻璃管壁，水面形成凹液面，形成向上的表面张力，该表面张力使水柱上升，直至表面张力向上的组分与水柱的重力达到平衡为止。（改自 Nobel，2009）

3.1.6 水的不可压缩性

和气体受到压力后容易压缩不一样，液态水在受到压力后其体积变化非常小，换句话说，如果将一个容器已经装满了水，再要装进去哪怕是一点的水都会产生很大的压力。对植物细胞来说，原生质体在吸收满水分之后（细胞相对体积为 1），如果再继续吸收少量水分，原生质体就会对细胞壁产生很大的压力，这就是植物膨压的起源，植物膨压的存在对于植物的生命活动具有相当重要的作用，它是维持植物细胞分裂和细胞伸长所必不可少的，同时也是维持植物的固有姿态（尤其是草本植物）所必需的。

3.1.7 水的透光性

水分对可见光和紫外线具有良好的透光性,在一些特别清澈的海水和湖水中(特别是在热带海洋),光线可以达到几百米的深度,这使得沉水植物仍然可以在水下进行光合作用,直至透光带的下层,低于此处后植物光合作用量低于植物的呼吸消耗,植物不能存活。

3.1.8 水的溶解性

在自然界所有已知的液体中,水是溶解物质种类最多的溶剂。这归功于水本身的适中的极性和极高的介电常数。水的适中的极性使得水既可以溶解无机物,又可以溶解有机物。介电常数是抵消电荷间相互吸引作用的能力的一种测度。由于水的极性,其带负电的一侧可以与正离子相吸引,其带正电的一侧可以与负离子相吸引,这有效地屏蔽了电荷,降低了正负离子间的静电作用力,使之难以结合在一起,从而增加其溶解度。

3.2 水在植物生命活动中的作用

由于水的上述性质,使之成为植物不可或缺的重要组分,水分在植物体内的作用主要有如下几个方面:

3.2.1 细胞的主要组成成分

植物细胞原生质含水量一般在其质量的80%以上,这样才可使原生质保持溶胶状态,以保证各种生理生化过程的进行。如果含水量降低,原生质由溶胶趋于凝胶状态,细胞生命活动也随之减弱。如果原生质失水过多,就会引起原生质正常结构破坏,导致细胞死亡。

3.2.2 代谢的重要原料

水是光合作用的原料,并参与呼吸作用、有机物质合成和分解过程。

3.2.3 各种生化反应和物质吸收、运输的介质

植物体内绝大多数生化过程都是在水介质中进行的,而绝大部分物质(无机物和有机物)只有溶解在水中才能被植物所吸收。同样植物体内的矿物质及有机物质也必须以水溶液状态才能通过输导组织运送到植物体各个部分。

3.2.4 保持细胞和个体固有的姿态

水分可使细胞保持一定的紧张度,使植物枝叶挺立,便于充分吸收阳光和进行气体交换,同时也可使花朵开放,利于传粉。

3.2.5 调节植物体的温度

水分子具有很高的汽化热和比热,因此,在环境温度波动的情况下,植物体内大量的水分可维持体温相对稳定。在烈日暴晒下,通过蒸腾散失水分以降低体温,使植物不易受高温伤害。而

在寒冷的情况下，水较高的比热，可保持体温不致骤然下降。

3.3 植物组织中水分的存在形式、状况及其测定

3.3.1 水分存在形式

水分在植物细胞内通常有两种存在形式：束缚水和自由水。**束缚水**(bound water)是指被原生质胶体颗粒紧密吸附的或存在于大分子结构空间中的水。它们在体内不能够移动，不起溶剂作用，其含量变化较小。因为植物细胞的原生质、膜系统以及细胞壁是由蛋白质、核酸和纤维素等大分子组成，它们含有大量的亲水基团，与水分子有很高的亲和力，在周围形成水化层。**自由水**(free water)是指存在于原生质胶粒之间、液泡内、细胞间隙、导管和管胞内以及植物体的其他组织间隙中的、不被吸附、能在体内自由移动、起溶剂作用的水。其含量随植物的生理状态和外界条件的变化而有较大的变化。它主要供给蒸腾的水分、补充束缚水，并且负担营养物质的传导和维持植物体一定的紧张状态，直接参与植物的生理生化反应。实际上，这两种状态水分的划分是相对的，它们之间并没有明显的界线，只是物理性质略有不同。

细胞内的水分状态不是固定不变的，随着代谢的变化，自由水与束缚水比值亦相应改变。自由水直接参与植物的生理过程和生化反应，而束缚水不参与这些过程，因此自由水与束缚水比值较高时，植物代谢活跃，生长较快，抗逆性差；反之，代谢活性低、生长缓慢，但抗逆性较强。例如，越冬植物组织内自由水与束缚水比例减低，束缚水的相对量增高，植物生长极慢，但抗逆性很强。在干旱条件下，植物体内的束缚水含量也相对提高，所以旱生植物生长缓慢，抗旱性强。当自由水降低到很低水平时，原生质由原来的溶胶状态转变为凝胶状态，例如，风干的种子，其代谢活动几乎观察不到，这时的抗逆性也最强。由此可见，影响植物正常生理活动的不仅是含水量的多少，而且还与水分存在状态有密切关系。

3.3.2 含水量

植物的**含水量**(water content)是指植物所含水分的质量占鲜重的百分数。植物的含水量与植物的种类、器官和组织本身的特性及其所处的环境条件有关。不同种类的植物含水量不同，水生植物的含水量在90%以上；中生植物含水量一般为70%～90%；而旱生植物含水量可低达6%。肉质植物含水量高于草本植物，而草本植物的含水量一般高于木本植物。不同发育时期含水量亦不同，一般幼嫩的植物比成熟、衰老的植物含水量大。不同器官组织含水量不同，根的含水量一般为80%～90%、茎为50%～80%、叶为80%～90%、果实为85%～95%、种子为5%～15%、休眠芽约为40%。植物的含水量也随外界环境条件而变化，凡是生长在荫蔽、潮湿环境中的植物，其含水量比生长在向阳、干燥环境中的植物含水量高。一天之中，植物在早晨的含水量大于中午。所以，植物体内的含水量与植物生命活动有密切关系，生命活动旺盛的部位，含水量就高。在研究植物生理活动的各种指标时，常常要测定植物的含水量。同时作物含水量也可以间接地反映出土壤的水分供应情况。生产上通常用**相对含水量**(relative water content，RWC)作为作物是否需要灌溉的指标。相对含水量为植物实际含水量占水分饱和时含水量的百分率，可用下式表示：

$$RWC(\%) = W_{act}/W_a$$

上式中 W_{act} 表示叶的实际含水量；W_a 表示叶在水分饱和时的含水量。

3.3.3 水势

(1) 水势的概念及组成

水势(water potential)是一个热力学术语，是一个能量单位，指偏摩尔体积水的化学势，即同温同压下每偏摩尔体积的水化学势差(一个系统中水的化学势与相同温度压力下纯水的化学势之差)再除以水的偏摩尔体积。水势用 ψ_w 表示，单位为帕斯卡。一般也用兆帕(MPa，1 MPa = 10^6 Pa)、大气压(atm)或巴(bar)作为水势单位，它们之间的换算关系是：1 bar = 0.1 MPa = 0.987 atm，1 标准 atm = 1.013×10^5 Pa = 1.013 bar。

我们规定纯水的水势为零，任何溶液的水势由于水分被溶质吸引，降低了自由能，皆为负值。水分的移动和其他物质一样是顺着能量梯度的方向进行的。在任何两个相邻部位之间或两个相邻细胞之间，水分总是从水势高处移向水势低处，直至两处水势差为0。

在一个体系中水势主要有溶质势、压力势和重力势几部分组成，即：$\psi_w = \psi_s + \psi_p + \psi_g$。有时也提到衬质势。

溶质势(或渗透势)(solute potential，osmotic potential，ψ_s) 是由于溶质颗粒的存在降低了水的自由能而使体系水势降低的数值。溶质势反映了溶液浓度对水势的影响。溶液的溶质愈多，其溶质势愈低，因此，任何溶液的水势均低于纯水的水势而为负值。在渗透系统中，溶质势表示了溶液中水分潜在的渗透能力的大小，因此，溶质势又可称为渗透势。根据 van't Horf 公式 $\psi_s = -iCRT$ 可以计算出液体溶质势的大小。在植物细胞内，由于细胞液中无机离子、糖类、有机酸、色素等溶质的存在降低了水的自由能而使细胞水势降低。细胞液中溶质的数量越多，细胞液的溶质势就越低。植物细胞的溶质势会因植物种类和植物所在环境而不同。一般陆生植物叶片细胞的溶质势是 −2 ~ −1 MPa，旱生植物叶片细胞的溶质势可以低到 −10 MPa。

压力势(pressure potential，ψ_p) 是由于压力的存在而使体系水势改变的数值。加正压力会使体系水势升高。在植物细胞内，由于细胞吸水，膨胀的原生质体对细胞壁产生压力(膨压)。同时，细胞壁则产生出一个数值相等、方向相反的对原生质体的压力，这一压力的作用是使细胞内的水分向外移动，即等于提高了细胞的水势。这种由于细胞壁压力的存在而引起的细胞水势增加的值叫细胞的压力势(ψ_p)。细胞的压力势一般为正值，在特殊情况下，压力势也可为负值或等于零。例如细胞质与细胞壁分离后，细胞的压力势为0；剧烈蒸腾时，原生质体快速失水收缩，而细胞壁与细胞质膜未能分离时，细胞的压力势为负值。在干涸的土壤中，土壤的压力势也为负值，可达 −2 ~ −4 MPa。

重力势(gravitational potential，ψ_g) 是由于重力的存在使体系水势增加的数值，称为重力势。重力作用使水向下移动，使处于较高位置的水比较低位置的水有较高的水势。当我们所考虑的是在很小范围内(即一个区域与另一区域的高度差不大)水的移动时，水势组成中的重力项(ψ_g)可以略去，因此在考虑植物的水势时，重力势一般忽略不计。

衬质势(matrix potential，ψ_m) 表面能够吸附水分的物质即为衬质(matrix)(例如木头、淀粉、蛋白质、泥土)，由于衬质的存在而引起体系水势降低的值称为衬质势。在植物细胞内由于存在蛋白质、淀粉和纤维素等亲水衬质，因而引起水势下降。衬质势的数值与衬质的含水量有关。干燥的衬质，其衬质势很低，$\psi_m \leq 0$；衬质为水饱和时，ψ_m 趋于0。

衬质可以通过三种作用使水势降低:①衬质的表面与水分子间的吸引力使得在衬质周围形成水膜,这部分水的自由能降低;②衬质表面所带的固定电荷使得带相反电荷的离子聚集在其周围。这使衬质附近溶质的浓度升高,从而使溶质势降低;③衬质与其周围的水间存在的毛细现象使水受到拉力(负的静水压力),降低水的压力势。因此衬质势已经通过溶质势和压力势计算在了水势中,不应再次计算,但在考虑到没有形成液泡的细胞、干燥的种子和土壤时,通常用衬质势表示水势。

(2) 测定组织水势的方法

测定水势的一般原理是:当植物组织的水势与其环境的水势相等时,在组织与环境间便不发生水分的迁移,即组织与环境间达到动态平衡,这样就可以用环境的水势来反映组织的水势。常用的方法有:

① 液相平衡法 把植物的组织放入一系列已知不同浓度的溶液中(溶质通常为蔗糖、甘露醇、聚乙二醇等,这些物质不易透过细胞的质膜,且不损害组织),经过一段时间后,找出其中组织体积不发生变化的溶液,它表明组织与溶液间没有水分的净交换,即二者的水势相等。根据公式 $\psi_s = -iCRT$ 计算出等渗透溶液的水势,即为组织水势。常用的方法有小液流法:先配制一系列已知浓度的蔗糖溶液,各分为两份,在实验时将植物材料切成小块,浸泡在其中的一份蔗糖溶液中,由于植物材料与蔗糖溶液间水势梯度的存在,导致蔗糖溶液从植物材料中吸水,失水或保持动态平衡,从而使蔗糖溶液变稀,变浓或保持浓度不变;实验时为了观察方便,经常向蔗糖溶液中加入少许甲基蓝作为指示剂,吸取少量液体放入另一份等浓度蔗糖溶液的中间,观看蓝色的小液流在原浓度蔗糖溶液中的流动方向,由此可以找到与植物材料水势相当的蔗糖溶液浓度,计算出其水势。

② 气相平衡法 该方法是测定水势的标准方法(图 3-4)。把植物组织样品封入小室中,小室内装有作为温度传感器的热电偶(thermocouple),热电偶上带一滴水或一定浓度的水溶液。开始时,水分同时从组织和液滴蒸发,使小室内的湿度升高,直至小室中的空气被水蒸气饱和或接近饱和。此时如果植物组织与液滴的水势相同,则在组织与液滴间没有水分的净迁移,液滴的温度将与环境温度相同;如果组织的水势低于液滴的水势,那么水分将从液滴蒸发,通过空气扩散,最后被组织吸收。液滴水分蒸发的结果是使其温度降低,蒸发得越迅速(即组织与液滴的水势差越大),温度降得越低;反过来,如果液滴的水势低于组织的水势,水分将从组织通过空气扩散,在液滴上凝结,使液滴的温度升高。改变液滴溶液的浓度(也就是说改变液滴的水势),有可能找到一个与组织水势相同的溶液,这时液滴的温度将不变。如果把植物材料换为溶液,这种方法就可以测定溶液的水势。

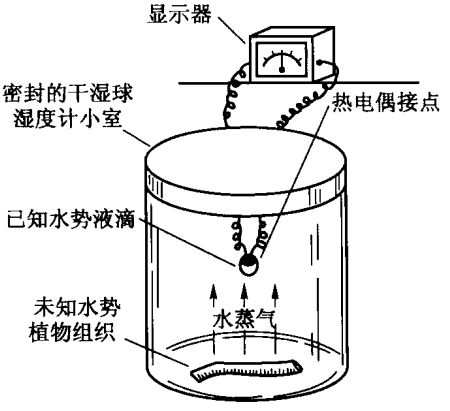


图 3-4 气相平衡法测定组织水势

(引自 Taiz 和 Zeiger,1998)

最近按照此原理又研发出一种便捷的水势仪:露点微伏压计(或纳伏压计),微伏压计实际上就是一个精密的电位计,能准确测出热电偶两端点温度差异而产生的细微的电位变化。仪器配套的 C-52 样品室由一个灵敏的热电偶和一个铝合金制的隔热性很好的叶室组成,实验时将植物材料放在叶品室内,将叶片或组织汁液密闭在体积很小的样品室内,经一定时间后,样品室内的空气和植物样品将达到温度和水势的平衡状态。此时,气体的水势(以蒸气压表示)与样品的水势相等。

因此，只要测出样品室内空气的蒸气压，便可得知植物组织的水势。由于空气的蒸气压与其露点温度具有严格的定量关系，该仪器便是通过测定样品室内空气的露点温度而得知其蒸气压。

③ 压力平衡法　即压力室(pressure chamber)法(图 3－5)。压力室法是一种可以快速测定植物大块组织例如枝条、完整叶的水势的方法。将欲测定的器官从植株上取下，密封于钢制压力室中，使茎的切割端或叶柄伸出压力室。在切取前，木质部中的水柱处于一定的张力(拉力)作用下，水柱被切断后，会从切面上被拉入导管分子中，切面因失水而变得无光泽。测定时向压力室通入压缩空气(或氮气)，直至水分恰好重新回到切面上，这时可以观察到切面变得有光泽。使水分重新回到切面所需的压力称为平衡压力(balance pressure)，它由仪器的压力表显示。平衡压力与材料被切取前存在于木质部中的负压力大小相等，但符号相反。木质部中的水势被认为与整个器官的水势十分接近，因它与周围的细胞密切接触。这样只要测定出木质部汁液的溶质势，就可以得到木质部水势，也就是整个器官的水势。又由于通常木质部汁液的渗透势很小(0.1～0.2 MPa)，而负压的值很大，(－1～－2 MPa)，因此也可以直接以测得的压力势近似代表器官的水势。

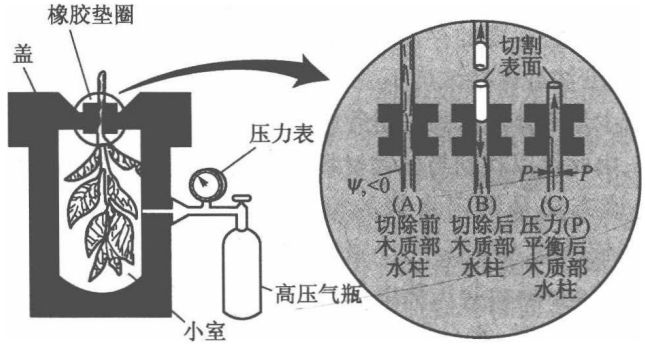


图 3－5　压力室法测定组织水势

(引自 Taiz 和 Zeiger,1998)

(3) 测定渗透势的方法

① 质壁分离法　将植物组织放入一系列不同浓度的蔗糖溶液中，经过一段时间，植物细胞与蔗糖溶液间将达到渗透平衡状态。如果在某一溶液中细胞脱水达到平衡时刚好处于临界质壁分离状态，则细胞的压力势 ψ_p 下降为零。此时细胞液的渗透势 ψ_s 等于外液的渗透势 ψ_{so}，即 $\psi_s = \psi_{so}$，此溶液称为该组织的等渗溶液，其浓度称为该组织的等渗浓度，因此，只要测出植物组织的等渗浓度，即可计算出细胞液的渗透势 ψ_s。实际测定时，由于临界质壁分离状态难以在显微镜下直接观察到，故一般均以初始质壁分离作为判断等渗浓度的标准。处于初始质壁分离状态的细胞体积，比吸水饱和时略小，故细胞液浓缩而渗透势略低于吸水饱和时的渗透势。

② 冰点降低法　据拉乌尔冰点下降原理，任何溶液，如果其单位体积中溶解的溶质的颗粒(分子和离子)总数目相同时，则引起溶液冰点下降的数值也相同。1 mol 的任何非电解质溶解于 1 000 g 水中，则使水的冰点由 0 ℃下降至 －1.857 ℃；而 1 mol 的电解质溶于 1 000 g 水中，其冰点下降值为离解离子与未离解的总物质的量乘以 1.857。因此，欲求某一溶液的溶质颗粒数目，可先测其冰点下降值，然后按公式 $\psi_s = -iCRT$ 算出其渗透势。目前溶液的冰点下降值可用冰点渗

透压计测定,并由仪器直接换算成颗粒浓度即 iC 值。

③ 压力 - 容积曲线法($P-V$ 曲线法) 该方法主要是依据范特霍夫定律所描述的渗透势与溶液体积的关系:

$$\psi_s \cdot V = K$$

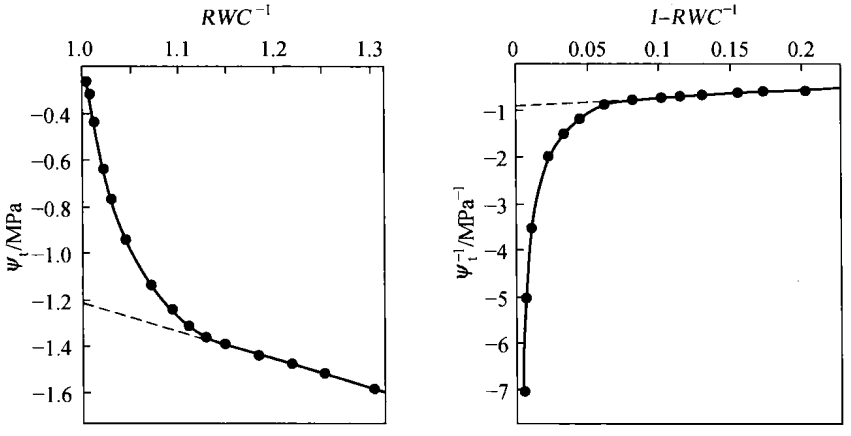
其中 K = iCRT(iC 为渗透溶质摩尔数,R 为气体常数,T 为绝对温度),可以通过两种方式将上式线性化,以便用于作图:

$$\psi_s = V^{-1} \cdot K$$

或

$$V = \psi_s{}^{-1} \cdot K$$

在研究过程中,V 往往用相对含水量(RWC)表示。实验时将植物材料充分吸涨,用压力室同步测定总水势(ψ_t)和 RWC 的变化,以每次施加的压力为纵坐标,相应的体积变化(V 或 RWC)为横坐标制作(图 3-6)。从 $P-V$ 曲线上除推出样品的饱和渗透势和直接得到渗透势外还可测出总含水量、相对含水量、膨压消失点时的相对含水量、平均膨压值、总体弹性模量和等水势线等。从理论上讲,该方法测到的渗透势和饱和渗透势是最准确的,但对不同植物在技术上存在一定的问题,应用时需慎重。



a. Ψ_t对RWC^{-1}作图　　b. Ψ_t^{-1}对$1-RWC^{-1}$作图

图 3-6 两种方法绘制的植物 $P-V$ 曲线

(4) 测定膨压的方法

膨压一般很难直接测定,往往由水势减去渗透势的方法计算出来。美国的 Paul Green 等(1967)发明了一种能直接测定细胞内压力的方法。用一很细的玻璃毛细管,一端封死,一端拉尖,其中充满空气。将尖端刺入细胞,细胞内的高压会使胞液进入毛细管而压缩管内的空气。根据毛细管中空气体积的变化,可以计算出细胞内的压力。这种方法只适用于体积较大的细胞,例如丽藻 *Nitella* 的巨大细胞(直径约 100 μm,长度可达若干厘米)。至于体积较小的细胞,由于细胞液进入毛细管,会使细胞明显减压,这样得到的便是一个不真实的、低的压力值。

Ernest Steudle 等(1978)发明了可用于小体积细胞的压力探针(pressure probe)。压力探针类似于微型注射器。将玻璃微毛细管的一端拉尖,可以刺入细胞。微毛细管中充满硅油,它难以压缩,并很容易与细胞液区分开。当微毛细管尖端刺入细胞后,由于细胞内相对压力高,细胞液进入微毛细管。调节压力探针上的活塞,使硅油与细胞液的界面回到微毛细管的尖端,并保持稳定(这些操作都在显微镜下进行)。这时细胞恢复了原初体积,而活塞上施加的压力正好与细胞内

的压力平衡,这个压力可以由仪器上的压力传感器测定。这样就直接测定了一个细胞中的压力势(图3-7)。这种方法的主要优点是细胞体积只受到极小的影响,其局限性在于,一些细胞太小而不适于测定;某些细胞被刺破后会发生泄漏,另有一些细胞会堵塞毛细管尖。

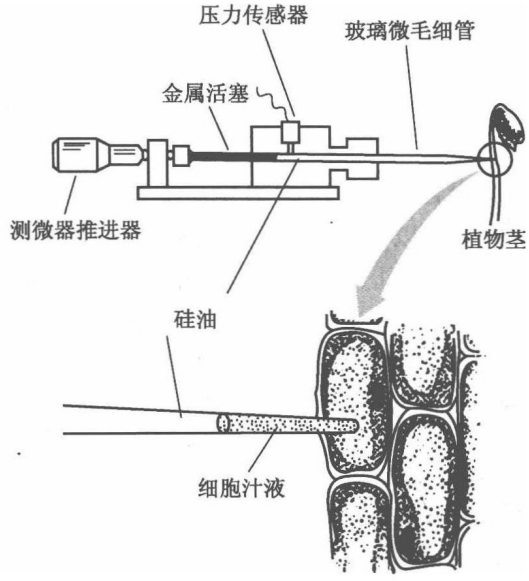


图3-7 压力探针法测细胞压力势

(引自 Taiz 和 Zeiger,1998)

3.4 干旱生境中植物形态结构的变化

植物经常遭受干旱胁迫的危害,在我国约有48%的土地面积处于干旱、半干旱地带,其中没有灌溉条件的旱地约占总耕地面积的51.9%。因此,干旱是限制我国农业生产的重要因素之一。从植物本身出发,深入了解植物抗旱特性,揭示其抗旱机制,必将为改进旱地和节水农业栽培措施及选育抗旱品种提供理论依据。

3.4.1 干旱及干旱类型

当植物耗水大于吸水时,植物体内即出现水分亏缺,水分过度亏缺的现象称为干旱(drought)。旱害(drought injury)指土壤水分缺乏或大气相对湿度过低对植物的危害。

(1) 水分胁迫程度

植物水分亏缺的程度可用水势和相对含水量(*RWC*)来表示。肖庆德(1973)将一般中生植物水分胁迫程度划分为三个等级:①轻度胁迫:水势略降低零点几个 MPa 或相对含水量降低8%~11%左右;②中度胁迫:水势下降稍多一些,但一般不超过 -1.2~-1.5 MPa 或相对含水量降低大于11%小于20%;③严重胁迫:水势下降超过 -1.5 MPa 或相对含水量降低20%以上。

(2) 干旱类型

根据造成植物水分亏缺的不同原因,可以将干旱分为三种类型:

① **大气干旱**(atmospheric drought) 高温、强光、大气相对湿度过低(11%~20%),导致植物

的蒸腾强烈,失水量大于根系的吸水量而造成植物体内严重水分亏缺。我国西北、华北地区春末夏初就常有大气干旱的发生。

② **土壤干旱**(soil drought) 是指土壤中可利用水的缺乏,使植物根系吸水困难,体内水分亏缺严重,正常的生命活动受到干扰,生长缓慢或完全停止。我国西北、华北、东北等地常因久旱无雨发生土壤干旱。

③ **生理干旱**(physiological drought) 指由于土壤温度过低、土壤溶液中离子浓度过高(如盐碱土或施肥过多)或土壤缺氧(如土壤板结、积水过多等)或土壤存在有毒物质等因素的影响,使根系正常的生理活动受到阻碍,不能吸水而使植物受害的现象。

3.4.2 干旱生境中植物形态结构变化

处于干旱胁迫下,植物体会在根、茎、叶等外部形态上发生一些可见的结构性变化,对干旱胁迫作出一定的形态学适应。

(1) 根系

植物根系是植物直接吸收水分的重要器官,它对植物的耐旱功能具有至关重要的作用。发达的根系系统可使植物充分吸收利用贮存在土壤中的水分,使植物度过干旱期。干旱生境下的植物的根在空间伸展方向、根长、根密度、根冠比、根的有效吸收面积、根体积等都会发生相应的变化,以适应水分亏缺,保证植物在干旱条件下吸收更可能多的土壤水分,以满足其本身及其他部分的需要。根的深扎(以根长或根量表示)已被认为是抗旱的一个重要特征。对高粱的根系解剖学研究发现,高粱根系吸水每天以 3.4 cm 的稳定速率下伸,直到开花后约 10 d,在水分有限条件下,吸水的多少由根系深度决定,深层吸水差是因其根长不够所致。

有关根系结构与抗旱性的关系已经在很多植物得到验证。在土层深厚的半干旱地区,许多植物(如树木)的根系可深达 10 m 以下,以便吸收深层土壤中的水分。如沙冬青的根系垂直深度是地上部分高度的 1.8 倍,在土壤水分含量较稳定的 1 ~ 2 m 的土层中,侧根分布多,向四面八方延伸,根幅达 5.6 m,是冠幅的 2.8 倍。这些特征都是根系对干旱的一种适应。干旱胁迫下的羊草、小麦、玉米等植物,在干旱胁迫早期根冠比增加,表明植物刚刚受到干旱胁迫时可通过增加根部的比重来提高抗旱性。Fukai 等人认为根系深、且密度大的水稻适合在高原干旱生境生长。也有人认为,植物的抗旱性与其根系的水平生长也有直接关系。杨文衡(1980)等人认为核桃和枣树是较为抗旱的树种,核桃树的根系水平扩展可达 20 m,为冠径的 3 ~ 4 倍,枣树是典型的水平根发达的果树,其根系的水平伸展更高,可达枝展的 5 ~ 6 倍。

(2) 叶片

叶片是植物进行光合作用制造有机物的主要器官,同时,植物吸收的水分中绝大多数通过叶片以水蒸气的形式蒸腾散失。叶片形态特征尤其是叶片解剖结构、胁迫下叶片的生长及运动形式与植物的抗旱性密切相关。旱生植物的叶片有多种形态类型与干旱生境相适应:一般来讲,有的旱生植物的叶小而厚,在结构上,叶的表皮细胞壁厚,角质层发达。栅栏组织层数往往较多,海绵组织和胞间隙却不发达,机械组织的量较多。研究发现,栅栏组织厚实是旱生植物的一个重要特征,栅栏组织与海绵组织厚度之比较高的植物抗旱性强。另外,研究发现小的表皮细胞表面积与体积之比以及较小的上表皮细胞,可以最大程度减少水分丧失。这些形态结构上的特征,或者是减少蒸腾面,或者是尽量使蒸腾作用的进行迟滞,再加上原生质体的少水性,以及细胞液的高

渗透压,使旱生植物具有高度的抗旱力,以适应干旱的环境。

旱生植物的另一种类型是**肉质化**(succulence)植物,如大叶落地生根、景天、马齿苋等。它们的共同特征是,叶肥厚多汁,在叶内有发达的薄壁组织,贮存大量的水分。仙人掌属于茎肉质化旱生植物,叶片大多退化,茎肥厚多汁。这些植物的细胞,能保持大量水分,水的消耗也少,因此,能够耐旱。研究表明植物叶片越厚,贮水力越强。除此之外还有多种叶片类型,如珊瑚树的叶片退化;柽柳、木麻黄的叶片退化成鳞片状或毛状;羽茅的叶片卷曲成筒状;这些变化有利于减弱蒸腾作用。

旱生植物除叶片本身有所变化外,其叶片表面往往也会发生一些适应性变化。旱生植物叶片表皮外常有发达的**角质层**(cutin layer),它可以减少水分向大气散失,是植物水分蒸发的屏障。厚的角质层可提高植物的能量反射,降低蒸腾,从而增强植物的抗旱性;有的旱生植物具有表皮毛,可以保护植物避免强光照射,并通过增加层阻力来降低蒸腾;如沙棘叶上表皮常有厚的角质层、浓密的表皮毛和白色的蜡质,这可能与减低蒸腾作用和反射强光有关。

叶片是植物的主要光合器官,叶片上的气孔是体内水分向外散失及光合原料 CO_2 进入细胞的主要通道,植物通过叶片气孔蒸腾散失的水分占其水分散失总量的 90% ~95%,因此叶片的气孔形状、气孔孔径及气孔密度的大小与抗旱性紧密相关。一些植物如胡杨、芦荟、松树的气孔下陷,由此可以降低水分蒸腾。气孔孔径小,水分散失的阻力大,植物抗旱性强。气孔密度与植物抗旱性关系的研究有两种结果,一种观点认为,气孔密度越小,抗旱能力越强,依据是气孔密度与气体交换阻力成反比,气孔密度小,气体交换阻力大,将减少蒸腾,同时,通过叶片散失水分的途径少。另一种观点认为,气孔密度大,有利于光合作用,而且可以把热量快速散掉,从而避免因热害而使原生质及叶绿体变性,在遭遇水分胁迫时叶片的气孔面积通常表现为增加。

除了气孔之外,叶片上另一水分散失的通道是角质层,而角质层的透水性是由镶嵌在角质层之中和铺设于其之上的**蜡质**(wax)的多少所决定的,蜡质层薄的叶片比蜡质层厚的叶片更容易蒸腾掉水分;同时,蜡质可以反射可见光和紫外线,从而降低植物温度。蜡质是一类有机物质混合物的总称,利用质谱 - 气相色谱技术目前共鉴定出了 100 多种组分,这些成分主要是脂肪族化合物、环状化合物以及甾醇类化合物等。其中脂肪族化合物是植物表皮蜡质最常见的组分,包括长链脂肪酸、醛、伯醇和仲醇。叶片上表皮的蜡质以不同的组成和结构堆集,其堆集方式与结构往往由蜡质的组成决定。Barthlott 等(1998)利用扫描电子显微镜观察了 13 000 多种植物表皮蜡质的形态结构并对其进行了系统分类和命名。他们将蜡质的微观形态结构分为柱状、棒条状、垂直片状、线状、烟囱状等 26 类。蜡质的合成受到环境条件的影响,如高温、干旱、强光会导致蜡质层的加厚。当然,蜡质层增厚到一定程度后对于降低蒸腾的意义就不大了,例如高粱是具有厚蜡质层的代表植物,而水稻是蜡质层薄的植物的代表,因此对于水稻来说,通过基因工程手段增加其蜡质厚度来提高其抗旱性还有一定潜力,但对于高粱来说就无此必要了。目前已克隆的与蜡质合成有关的基因总结于表 3 - 1。

表 3 - 1　已克隆的与蜡质形成相关的基因(改自李魏强等,2006)

基因	基因功能	参考文献(见原文)
CER1	醛脱羰基酶,催化长链醛到烷的转化	Aarts *et al.* 1995
CER2	CoA - 酰基转移酶	Xia *et al.* 1996
CER3	可能编码一个调节蛋白,调节蜡质合成	Hannoufa *et al.* 1996
CER4	编码脂肪酰 - CoA 还原酶	Kunst *et al.* 2003; Rowland *et al.* 2006

续表

基因	基因功能	参考文献(见原文)
CER5	ABC 转运蛋白,转运蜡质到表皮	Pighin *et al.* 2004
CER6	延长 C_{24}超长链脂肪酸	Fiebig *etal.* 2000
CER7	编码一个具有 3′→5′外切活性的核糖核酸酶,可能通过降解 WAX2/CER3 转录的一个负调节子的 mRNA 而控制其表达	Hooker *et al.* 2007
WIN1	调节蜡质在表皮的沉积	Broun *et al.* 2004
WAX2	编码一个跨膜蛋白,与表皮蜡质合成有关	Chen *et al.* 2003
KCS1	脂肪酰 - CoA 延长,可能在蜡质合成的脱羧和酰基还原中起作用	Todd *et al.* 1999
SHINE	激活蜡质的合成	Aharoni *et al.* 2004
GLOSSY1	影响表皮蜡质的合成	Sturaro *et al.* 2005

(3) 茎

抗旱性强的植物其茎的输导组织发达,水分输导阻力小,表现为皮层与中柱比率大,维管束排列紧密,束内导管多,直径大。旱生植物抗旱性强是因为其长期适应干旱环境的过程中,形成了独特的轴器官,表现出典型的旱生特征。一般旱生植物茎的皮层与中柱的比率较大,髓较窄(Fahn 和 Shchori,1987)。例如,旱生植物委陵菜茎的横切面均由表皮、皮层及维管组织构成,具有较发达的髓部及皮层厚角组织,维管组织排列紧密成一圈似圆桶状。其中有的品种如多茎委陵菜具有复表皮现象,并且维管组织与基本组织(皮层和髓)的比率相对较小,这是一种旱生结构(李正理等,1981)。在对抗旱性不同的 9 种小麦属(*Tritium*)和 1 种大麦属(*Hordeum*)植物的研究中发现,在水分胁迫条件下,抗旱性较强的麦类,其输导组织坚韧度较大的麦类茎的直径变化很小,而输导组织坚韧度较差的麦类茎的直径在水分胁迫后都显著减小(尤努斯,1996)。吴树明等人(1994)利用光镜及扫描电镜对两种麻黄茎次生木质部进行了解剖研究中发现,麻黄的导管与管胞并存,说明同时具有一般沙生被子植物所具有的宽窄两种类型的导管及复孔率高等典型的适应特性。

3.4.3 干旱对细胞结构的影响

(1) 干旱对细胞壁的影响

干旱胁迫下,植物细胞因失水而收缩,细胞膨压消失,抑制细胞扩大和伸长生长。细胞的扩大至少涉及三个过程:一是细胞壁松弛,二是吸水膨胀,三是合成新的细胞原生质材料。为维持细胞的膨压和细胞壁的弹性,植物主要通过两种方式来调节,其一为渗透调节,即植物细胞通过溶质积累来降低渗透势维持膨压;另一方面还可通过增大细胞壁的弹性伸缩范围来维持膨压,这同时可避免在复水过程中因原生质快速吸水而造成的机械损伤。因此细胞壁的弹性在水分胁迫下具有非常重要的意义。李岩等研究发现,抗旱性弱的玉米山农 3 号根本没有弹性调节能力,而抗旱性强的丹玉 13 号具有此调节能力,因此在复水过程中抗旱性弱的山农 3 号极有可能产生机械损伤继而影响到其他生理过程。Wu 等发现土壤干旱可以提高细胞壁中的一种松弛酶——木葡聚糖内转葡萄糖酶的活性,因此可以导致细胞壁弹性增加。

(2) 干旱对细胞膜的影响

细胞膜具有选择透性,往往是阻挡逆境胁迫下各种因子攻击的首道屏障。但干旱胁迫会改

变细胞膜组分，导致膜脂过氧化并改变膜相，导致膜透性的变化。干旱胁迫下细胞膜组分的变化有助于增加膜的完整性和维护细胞的区隔化。膜脂是细胞膜的主要组成成分，对拟南芥的研究发现，干旱胁迫下膜脂合成降低，而其分解加速，造成其膜脂总量逐渐减少，而复水后又逐渐恢复。脱水造成的膜脂含量的降低与干旱下脂解酶活性的升高呈正相关。尽管细胞水分含量下降，但一般情况下膜脂的分布并不受影响，除非在极度脱水的情况下，细胞膜的膜脂分布才会改变，从而导致膜蛋白构象和细胞超微结构的变化。

Svenningsson 和 Liljenberg(1986)以及许长城等(1996)的研究也表明，干旱条件下植物根细胞膜总脂及磷脂含量下降，由于磷脂是构成根细胞膜的主要组分，因此水分胁迫条件下磷脂含量的下降反映了根细胞膜的减少。磷脂含量的降低可能有利于减轻或缓和由于细胞体积缩小而引起的物理胁迫或对膜结构的致密作用，这些变化有利于维持膨压及增强组织的物质运输能力(Wilson 等，1987)。甾醇与磷脂比率是决定生物膜流动性的一个重要因素，膜脂脂肪酸不饱和度的下降可以降低生物膜的流动性(Liljenberg 和 Kates，1985)。干旱处理使游离甾醇与磷脂比率增大，膜脂脂肪酸不饱和度下降，这样可导致细胞膜的流动性降低。

在膜脂的组成中，MGDG(单半乳糖二酯甘油)对干旱最为敏感，拟南芥、棉花、可可等的细胞膜 MGDG 含量都因干旱处理而下降，实验表明，干旱胁迫下诱导 *patatin-like* 基因的表达，其基因表达产物具有半乳糖酯酶的活性。另外拟南芥的 *AtMGD1* 基因在干旱胁迫下的表达减少，而该基因控制了约 75% 的 MGDG 的合成。最近发现，膜类降解产物在干旱信号传递过程中可以起到第二信使的功能，如 phytooxylipin 途径(Blée，2002；Howe 和 Schilmiller，2002)。

与干旱下 MGDG 含量下降相反，DGDG(双半乳糖二酯甘油)含量在干旱处理下含量升高，造成 DGDG:MGDG 比值升高。实验表明，干旱下 DGDG 合成的基因 *AtDGD1* 表达增加，Härtel 等(2000，2001)证明，干旱情况导致植物对磷酸盐的吸收减少，造成植物磷脂合成受限，此时 DGDG 可以聚集到 extraplastidial membranes，起到代替磷脂的作用。

在脂－水混合物中，MGDG 呈现六角形结构，而 DGDG 呈现片层状结构，因此 MGDG 和 DGDG的比例对于维持膜的稳定非常重要的意义，在干旱条件下，DGDG 与 MGDG 比例的升高有助于维持膜脂的双分子层构象，这是保证膜功能所必需的(Dörmann 和 Benning，2002)。

干旱胁迫下不仅细胞膜 MGDG 与 DGDG 的比例发生变化，而且膜脂脂肪酸发生过氧化，这是由于在干旱胁迫下活性氧的产生增多所致。正常情况下，植物体内的活性氧的产生和清除处于平衡状态，植物体内产生的 $^1O_2$、H_2O_2、O_2^- 以及 $\cdot OH$ 可以被 SOD、POD(过氧化物酶)、CAT(过氧化氢酶)等活性氧清除酶以及 GSH、AsA、DMSF、VE 等抗氧化剂清除掉。但在干旱生境下，由于光合作用暗反应速度的下降，导致光能过剩并诱发活性氧的积累。在活性氧中，$\cdot OH$ 可以直接引发膜脂过氧化自由基链式反应，造成膜相分离，破坏膜的正常功能，并且其过氧化产物丙二醛(MDA)的产生和积累会加剧对细胞的毒害，而 $^1O_2$、H_2O_2 和 O_2^- 3 种活性氧可以分别通过 Haber-Weiss 反应和 Fenton 反应等途径转化为 $\cdot OH$ 后诱发膜脂过氧化。

大量研究表明，植物的抗旱性与其体内保护酶系统对活性氧的清除能力直接相关，Li 等(1998)和 Hong 等(2007)报道抗旱性强的玉米和小麦品种具有较强的自由基清除能力。Dhindsa 等(1981)用抗旱性不同的藓类为材料研究不同脱水速度下 SOD 活性与膜脂过氧化的关系时发现，耐旱的藓类在慢速干旱时 SOD 与 CAT 活性迅速上升，但在快速干旱处理时 SOD 与 CAT 活性保持稳定。王宝山和赵思齐试验结果表明，小麦幼苗在适度干旱条件下 SOD 活性有所上升，过

度干旱使 SOD 活性下降。史兰波和李云荫(1990)报道,短时中度快速水分胁迫下小麦幼苗 SOD 活性增加较多,而短时重度水分胁迫下 SOD 活性增加较少,但同一处理条件下抗旱性强的品种 SOD 活性增加幅度大。蒋明义等对水稻幼苗研究发现,轻度水分胁迫下 SOD 活性呈上升趋势,而在较重的胁迫下 SOD 活性先升后降,且抗旱性不同的品种差异明显。总之,从已发表的资料来看,大多数实验证明植物体内 SOD、POD、CAT 等的活性在水分胁迫下有增加趋势。与干旱敏感品种相比,抗旱性强的品种可能存在较强的保护酶合成调节系统。在水分胁迫条件下,其保护酶 SOD、POD、CAT 活性能维持较高的水平,清除自由基、防御膜脂过氧化的能力较强,因而对干旱有较大限度的适应能力。

细胞膜是脂质双层结构,膜蛋白(一些受体、酶、离子通道)在双层中不停地旋转并在脂双层中扩散,这些结构是膜流动和分子发挥功能的必需条件。活性氧通过膜脂过氧化作用而引起膜脂分子结构的改变,降低膜的流动性,并最终造成膜的破坏。膜脂过氧化重要产物之一是 MDA(丙二醛),它可与细胞膜上的蛋白质、酶等结合、交联使之失活,从而破坏生物膜的结构与功能,是有细胞毒性的物质,对许多生物大分子均有破坏作用,人们常以 MDA 作为判断膜脂过氧化作用的一种主要指标。许多研究表明 MDA 含量与细胞膜相对透性呈正相关。生物膜中结构蛋白和酶的聚合和交联,改变了这些蛋白质的空间构型,从而改变了它们的结构和催化功能。而膜中不饱和脂肪酸的过氧化及其过氧化产物都直接影响膜的组成、结构、膜的流动性、透性及其生理功能。各种亚细胞器如叶绿体膜、线粒体膜和微粒体膜等也受到损伤,植物细胞光合、呼吸及其他代谢过程出现紊乱,最终导致细胞死亡。

干旱下膜脂过氧化的结果是导致膜脂不饱和度的降低,膜相的分离,以及**膜透性**(membrane permeability)的加大,细胞内电解质外渗并进一步引起代谢紊乱,大量结果表明干旱处理后植物细胞膜的相对电导率急剧升高,同时氨基酸、可溶性糖、无机离子等电解质大量外渗,影响了代谢平衡。

(3) 干旱对细胞器的影响

① **叶绿体**(chloroplast) 正常供水情况下叶肉细胞叶绿体呈长椭圆形或船形,紧贴细胞壁成单层排列,外面有光滑被膜包围。而在干旱胁迫下,叶绿体形状由长椭圆形渐变为椭圆形或圆形。同时,由于细胞脱水,叶绿体离开细胞壁而移向细胞中央,叶绿体的被膜在干旱胁迫下开始逐渐膨散,被膜产生皱褶,进而局部破裂,**基质**(stroma)外溢,严重的时候叶绿体被膜消失。

干旱胁迫下叶绿体中脂类小滴也呈现规律性变化。随着干旱胁迫的深入,叶绿体内的脂类小滴从无到有,而后逐渐变多变大,且位置由叶绿体中部向边缘转移。脂类小滴的这种变化在不同抗旱品种中表现不同,敏感品种表现最为突出。

正常情况下叶肉细胞叶绿体的**基粒**(granum)片层和间质片层排列整齐有序,以进行有序的光能吸收、传递和光化学反应,而在干旱胁迫下,先是基质片层出现膨散现象,而后基粒片层膨散,片层排列发生扭曲,严重干旱胁迫下**类囊体**(thylakoid)肿胀、空泡化,乃至于片层解体(图 3-8)。

在干旱处理中,叶绿体的变化一般随干旱程度和持续时间的增加而增加,但并非完全如此。虽然干旱处理完全一样,但不同叶绿体的超微结构变化并不完全相同,这种现象不仅出现在不同叶片中,即使在同一叶片,甚至同一叶肉细胞中也不例外。我们经常发现,一个叶肉细胞中的绝大部分叶绿体的超微结构都已发生了明显变化,但仍有个别叶绿体没有变化或变化不明显。在这里叶肉细胞和叶绿体的发育也是一个极其重要的因素。一般来讲,较老的叶绿体容易受干旱的影响,较年幼的叶绿体则比较稳定。所以在干旱处理过程中,低叶位中的叶绿体一般比高叶位

中的叶绿体容易发生变化或变化较大，同一叶片中端部叶肉细胞中的叶绿体通常比其基部叶肉细胞中的叶绿体变化更明显或受害更严重。

② **线粒体**(mitochondrion) 电镜观察发现，未受水分胁迫的植物细胞线粒体完整，基质均匀、浓厚，嵴正常。水分胁迫使线粒体结构有较大变化，仵小南等(1986)发现小麦在用0.3 mol/L甘露醇进行渗透胁迫6 h后，线粒体嵴已部分遭受破坏；12 h后线粒体开始肿大，嵴破坏得更加严重；24 h后线粒体继续肿大，嵴进一步遭受破坏，胞质中出现脂质滴；48 h后线粒体外膜破坏，结构破坏无遗，峭所剩无几，此时线粒体已瓦解。随着线粒体的肿大，线粒体基质逐渐变稀。许振柱等也发现在严重水分胁迫下，小麦线粒体溶解于基质中而完全破损，说明小麦生长中后期干旱促进线粒体衰老。

③ 其他结构的变化 在正常水分状况下，细胞核呈圆球状，异染色质分散分布于常染色质之间，彼此分开；随着水分胁迫时间的延长，细胞核出现核固缩现象：核膜皱缩，异染色质逐渐凝聚，而在严重水分胁迫下，核膜消失，细胞核开始解体。内质网、高尔基体、核糖体是负责物质合成与运输的重要细胞器，在水分胁迫下，内质网变成平行排列的复合体，网管的延伸受到抑制，与此同时多核糖体分解，而游离核糖体的密度增加；高尔基体管网变得松散，高尔基体囊泡的形成受阻。植物液泡具有通过积累各种溶质来调节细胞膨压的功能，位于液泡膜上的运输蛋白通过对离子及有机溶质的运输来调节细胞质的物质达到一个适合的浓度。同时它还是细胞的一处重要物质水解的部位。在干旱胁迫下，植物液泡，尤其是中央液泡的体积增大(Milada Ciamporova，1980)。

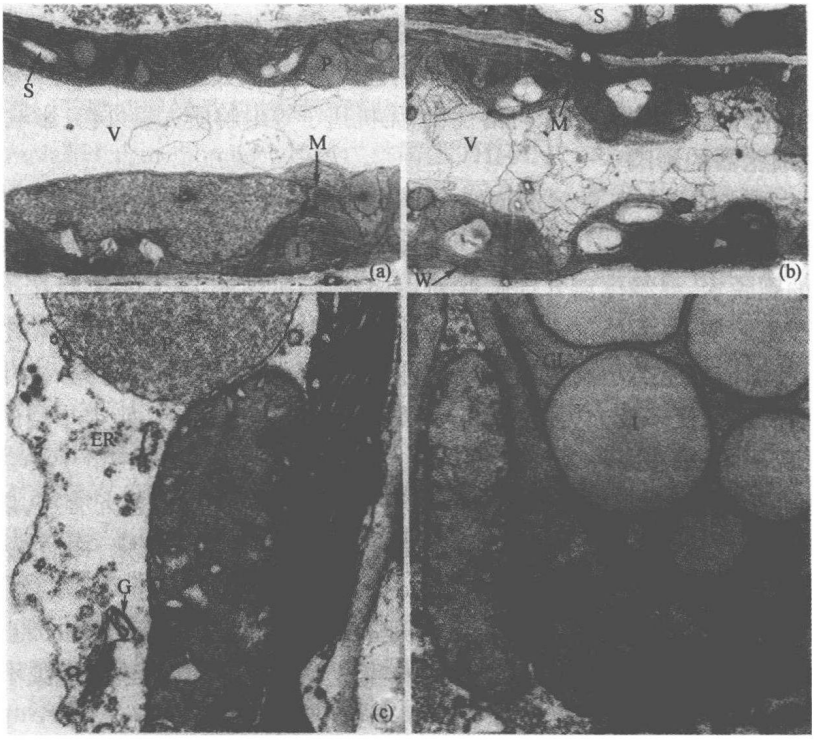


图3-8 正常处理[(a)和(c)]与干旱处理[(b)和(d)]对棉花叶片栅栏细胞结构的影响

图中Ch. 叶绿体；ER. 内质网；G. 高尔基体；GL. 基粒片层；I. 叶绿体内体(intrachloroplast body)；M. 线粒体；MC. 线粒体嵴；P. 过氧化物体；S. 淀粉粒；SL. 基质片层；V. 液泡；W. 细胞壁。(引自Berlin等，1982)

水分胁迫下植物叶绿体,线粒体等细胞器受害程度与植物的抗旱性有关,抗旱性强的品种发生的变化都比抗旱性弱的品种低。曹慧发现抗旱性不同的两种苹果平邑甜茶与新疆野苹果,现在正常供水下二者叶片的超微结构基本相同。水分胁迫 6 d,抗旱性强的新疆野苹果,叶绿体趋于圆球状,基粒类囊体排列不整齐,而抗旱性较弱的平邑甜茶,叶绿体已离开细胞壁,出现质壁分离类囊体明显肿胀,且出现透明腔。12 d 后平邑甜茶和新疆苹果的叶一肉细胞超微结构变化加剧,而平邑甜茶细胞已破裂,内容物溢出,叶绿体溶解散乱在介质中,叶绿体没有被膜并且有的类囊体已解体,基质片层大部分溶解,新疆野苹果细胞受影响程度相对较弱。

除了胁迫程度和抗旱性外,不同的器官对水分胁迫的反应也不尽相同。陈军等对开花期的玉米进行水分胁迫观察根和叶超微结构变化,发现根细胞受干旱伤害的程度远远大于叶肉细胞。干旱 7 d 后,根细胞的质膜已完全脱离细胞壁,而且质膜断裂严重,线粒体外膜基本破裂,嵴膜几乎完全消失,只剩下一个空腔,而叶肉细胞质膜只是部分断裂,线粒体外膜部分破坏,还有部分嵴膜存在。

另外,即使是同一器官的不同细胞甚至同一细胞的不同细胞器对水分胁迫的超微结构变化也并不完全相同。一般说线粒体结构的变化比叶绿体较为迟钝,如干旱后有些线粒体仍具有完整清晰的膜,而与此同时,叶绿体结构却受到严重损害。陈京认为甘薯细胞对水分胁迫的敏感程度由强到弱依次是:叶绿体 > 液泡膜 > 线粒体。

3.5 干旱对植物生理过程的影响

干旱胁迫下植物体内含水量下降、水分在植物体内各部分间发生重新分配;干旱同时造成植物细胞分裂受阻,细胞伸长受抑制,植物光合作用下降,物质代谢平衡紊乱,蛋白质的合成受阻,而分解加速,导致植物生长缓慢;干旱同时会影响到植物体内植物激素含量的变化,影响到植物的发育,引起器官的提前衰老和脱落。

3.5.1 含水量

中生植物的含水量一般在 60% ~ 70%,水分供应不足时,植物体内含水量和相对含水量下降,如图 3 - 9 是柽柳叶片相对含水量随时间的变化。

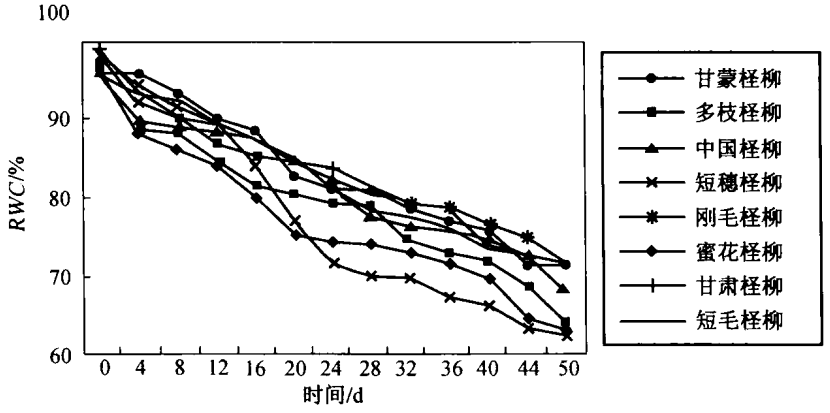


图 3 - 9 土壤缓慢水分胁迫条件下 8 种怪柳植物 *RWC* 变化趋势图

(引自王霞等,1999)

缺水不仅影响植物含水量,还能引起器官间水分重新分配,幼嫩部分从老叶中夺取水分,促使老叶早衰。因此,干旱时叶面积小、光合势降低、株矮、产量低。

当环境中水分缺乏时,对于植株含水量、水势、蒸腾和吸水的影响相当复杂。总的情况是这些指标均在降低,但幅度和进程并不一致。在特定情况下,例如大气条件十分有利于蒸腾,而土壤水分尚未耗尽的情况下,蒸腾和吸水反而增强。过去曾认为在土壤达到**永久萎蔫点**(permanent wilting point)之前,对吸水蒸腾等没有影响,即在田间持水量和永久萎蔫点之间水分都是同样有效的。但之后无数试验表明情况并非如此,即在土壤水分减少达到永久萎蔫点之前,植物的吸水、蒸腾、生长等即逐渐减低,到永久萎蔫点时,几乎就都停止了。

3.5.2 生长

植物生长是代谢过程在形态上的综合表现,其速度受到了细胞的分裂与伸长速率以及光合作用与呼吸作用的协调,并受到了植物激素的调节。而生长本身又影响了植物的光合面积和生产潜力及产量,并对植物代谢产生反馈调节作用。因此水分胁迫对生长的影响是长期受到人们关注的问题之一。

轻微的水分胁迫就会明显地抑制生长,如仅在 -0.3 MPa 的轻度土壤干旱处理 1 d 后,小麦叶片的伸长速率就下降了 50%,其有丝分裂活性下降了 58%,其分裂区也从 8 mm 下降为 4 mm(Schuppler 等,1998)。一般植物的地上部分如叶片比地下部分对水分亏缺更为敏感,如当玉米叶片水势下降到 -0.45 MPa 时,叶片伸长就受到明显抑制;接近 -1.0 MPa 时,叶片伸长基本停止。而此时根部即使在水势下降到 -0.85 MPa 时仍维持正常生长速度,即使水势下降到 -1.5 MPa其生长仍未完全停止。植物叶片生长速度的下降对干旱逆境下的植物是有利的,这有助于降低叶面积并降低蒸腾。

(1) 干旱对细胞分裂的影响

植物组织的生长量取决于细胞的数量和每个细胞的大小:细胞分裂决定生长的潜力,细胞伸长决定生长潜力的表达。如上所述,如果土壤的水势突然下降,植物叶片的伸展会立即受到抑制,这里生长的下降应该是抑制了已有细胞的伸长,而不可能是抑制一个新细胞的分裂;但如果植物长期处于干旱土壤中,这样植物叶片的细胞分裂就受到抑制,形成的就是所含细胞数量少的小叶片。

细胞分裂主要与 DNA、RNA、蛋白质和细胞壁物质的合成有关;这些物质的合成作用与细胞的水分状况有关,但更与光合产物和 O_2 的供应有关,因而 CO_2 供应不足和光强度下降比轻度缺水对细胞分裂的抑制作用更大。

(2) 干旱对细胞伸长的影响

一般说,细胞伸展过程比细胞分裂对水分胁迫更为敏感,缺水植株矮小,叶面积下降,主要是细胞体积变小,总细胞数目往往变化不大,如烟草植株干旱处理 7 d 后叶细胞数下降不到 10%,而细胞面积下降却接近 50%。

早期的研究结果认为,细胞膨压在细胞延伸生长过程中起主导作用,即水分亏缺下植物地上部组织的生长受抑现象,主要是因为膨压降低所致。但是,后来愈来愈多的实验结果却并不支持这一观点。例如,盐渍条件(约 -1.5 MPa)下,黄化豌豆(*Pisum satium*)幼苗活体茎组织的延伸生长速率,虽然降低了 50% ~60%,但其生长区的膨压却并不平行下降。水分亏缺下,虽然玉米幼

苗叶片生长区的膨压因渗透调节作用而基本保持不变,但其生长速率却显著受抑;Nonami 和 Boyer 用一种新设计的截切式热电偶湿度计(guillotine thermocouple psychrometer),对水分亏缺下活体大豆(*Glycine max*)茎组织的测定结果表明,虽然正在延伸生长的细胞的膨压保持恒定,但其延伸生长速率却大为降低。而且有实验证明,地上部分和根组织的延伸生长对水分亏缺的反应恰恰相反:地上部分膨压保持不变,生长严重受抑;而根即使膨压显著下降,却几乎不影响其根的延伸生长。

最近有人提出控制伸展的可能是木质部向叶片的水分供应量的变化。在干旱胁迫下,玉米叶片的水势下降,同样下降的还有木质部水势,我们知道叶片中水分的供应取决于木质部与叶片的水势差,木质部水势的下降会降低木质部与叶片间的水势梯度,减少甚至断绝叶片的水分供应。而适度的水分供应足以维持膨压,但不一定足以引起细胞的扩展。

还有研究证明在水分胁迫下,细胞内溶质浓度的升高和植物的渗透调节只有在生长下降后才可以测到,水分亏缺对细胞壁特性的影响可能会更直接,植物细胞壁的伸展性在调控细胞延伸生长方面具有重要作用。在 Chazen 和 Neumann 的研究中发现:玉米幼苗在用 PEG 处理 2 min 后,即可检测到离体叶片细胞壁的硬化响应;当用活根系进行试验时,亦可见玉米根系因渗透胁迫而快速导致远距离的地上部叶片细胞壁硬化是水力信号的传递结果,而不是激素或电信号。根系方面快速反应的机制尚不清楚,但有证据表明细胞壁酸化或氧化耦联速度的变化也具有快速反应的特点。在水分亏缺条件下,植物细胞生长受抑的一连串响应事件中,细胞壁的硬化响应可能是一种原初事件。

总之,从细胞扩展的过程可以看出,膨压大小,细胞壁的松弛和细胞内溶质的积累是三个影响细胞扩展的因素。细胞生长速率 $r = \mathrm{d}V/\mathrm{d}t = E(P - Y)$,其中 r 为生长速率,$\mathrm{d}V/\mathrm{d}t$ 即为单位时间内的体积变化,E 为细胞壁的延伸系数(extensibility),P 为细胞膨压,而 Y 为细胞扩展的膨压临界值,称为阀值膨压(yield threshhold)。

3.5.3 矿质吸收

水分胁迫对矿质养分吸收的影响仍未完全解决。缺水可相当程度地减少植物对矿质的吸收,但矿质的吸收并不直接依靠水的吸收,二者为两个相对独立的过程。土壤养分的有效性,并不一定受土壤水胁迫的影响,至少在有效水范围内是如此。

缺水会对植物生长产生抑制,因而植物对矿质的需求有所减少,这样就相对地缓和了植物的需要和供应之间的矛盾,但矿质养分吸收减少仍可能影响植物的生长和发育。在对小麦的试验中,发现缺水对钾吸收的抑制大于氮和磷。玉米和大豆根细胞对磷的吸收,在水势低于 -12 ~ -15 bar时,也受到严重的抑制。洋葱对磷的吸收比对钾的吸收对水胁迫更敏感,镁的吸收比钙的吸收敏感。受水分胁迫的小麦、黄豌豆的 Ca/K 和 Ca/P 均增高。燕麦根对锌的吸收不甚敏感,可能由于在干土中比在湿土中根分泌物较多。

在有些情况下,缺水对矿质养分总的含量影响不大,但个别叶片的吸收形式则变化很大。例如充分供水的植株,当叶子年龄增长时,氮和磷的含量均减少,在受胁迫的植株中二者的水平也下降,但幼叶中下降要多,并且磷比氮下降的更早更显著。两种养分均有由幼叶移向茎的趋势。

干旱胁迫除直接影响吸收外,还抑制矿质的运输,如大麦、小麦幼苗对铷、玉米对磷的吸收,主要是因为运输受到抑制,而吸收是次要的。也有证据表明在水胁迫下,磷和钾可渗漏到体外,

但是这些原因所占的比重则很难确定。

在植物遭受水分胁迫之前,适当地施肥可以阻止或减轻由缺水引起的矿质营养胁迫的影响。例如施氮、磷、钾给小麦,施氮给谷子,给玉米施较多的钾肥。在农业实践和自然植被中均可见到施加矿质营养减轻干旱伤害的情况。

3.5.4 光合作用

植物光合作用将无机物质转化为有机物,同时转化太阳能,是地球上最重要的化学反应,也是绿色植物对各种内外因子最敏感的生理过程之一。植物光合生理对某一环境的适应性,很大程度上反映了植物在该地区的生存能力和竞争能力。因此研究光合作用对不同环境因子的响应,不仅对阐明光合作用的运行机制有理论意义,对农林牧业的生产实践也具有重要指导意义。

干旱胁迫通过各种途径降低植物的光合能力。在轻度干旱的条件下,由于植物自身的渗透调节作用,光合速率下降不是很明显,而在中度和严重干旱条件下,光合作用下降明显。干旱条件下,光合速率的下降与植物对光能和 CO_2 的利用有直接关系。土壤干旱程度增加,叶片光补偿点和 CO_2 补偿点增高,光饱和点和 CO_2 饱和点下降,这表明干旱胁迫使气孔关闭,叶肉细胞光合活性下降,光能利用率降低。

干旱胁迫不仅降低植物的光合速率,而且影响净光合速率的日变化。在正常条件下,草莓(*Fragaria ananassa*)的净光合速率(P_n)较高,"双峰"明显,有典型的"午休"现象;在轻度和中度的干旱胁迫下,植株的 P_n 虽有"双峰"和"午休"现象,但不明显,而且光合速率下降;严重干旱胁迫下,"双峰"现象消失,光合作用基本停止,说明干旱造成光合作用完全受阻。由于不同植物的净光合作用日变化各有不同,有些植物日变化没有"峰值",有的只有"单峰",干旱胁迫对不同植物的"峰值"影响也有不同,如干旱胁迫使欧李(*Cerasus humilis*)的日变化曲线由"单峰"型变为"双峰"型,最终导致光合速率的降低。

(1) 干旱胁迫下的气孔限制与非气孔限制

干旱胁迫对植物光合作用的抑制包括**气孔限制**(stomatal limitation)和**非气孔限制**(non-stomatal limitation)。前者是指干旱胁迫使气孔导度下降,CO_2 进入叶片受阻而使光合下降,从而直接影响植物的光合作用,使植物的生长受阻。气孔限制并非光合作用的唯一抑制因素,随着植物叶片水势的降低,光合速率下降有一个从气孔限制向叶肉细胞光合活性限制的转变过程,也就是向非气孔因素转变的过程,表现为光合器官活性的下降。

气孔限制　气孔是叶片与外界进行气体交换的门户,其开度变化对植物水分状况及 CO_2 同化有着重要影响。一般认为,随着叶片水分散失和叶片水势下降,气孔张开度减小,气孔阻力增加,CO_2 进入叶片受阻,导致植物光合速率下降。最初认为,干旱使气孔关闭而导致光合作用下降。在田间条件下,空气中 CO_2 含量大多达不到植物光合作用最高水平的浓度,干旱胁迫造成气孔阻力增加,从而进一步限制 CO_2 吸收,细胞间隙 CO_2 浓度(C_i)下降,光合作用随之而下降;当解除胁迫后,气孔开放,光合作用很快就恢复到原来的水平,所以将干旱胁迫条件下光合作用下降的原因归结为气孔限制。

气孔限制是造成光合下降的首要原因。卢从明对水稻光合作用的研究表明,干旱胁迫 1 d 后,气孔导度的下降与光合速率降低相一致;2 ~ 3 d 后,气孔导度的下降幅度比光合速率大;当水分胁迫 4 ~ 5 d 后,光合速率的下降幅度反过来比气孔导度大。这说明,轻度干旱导致气孔阻力

增大,光合速率降低,同时暗示着存在其他抑制光合作用进程的因素。杨俊霞研究了不同干旱条件下美国黑莓(*Rubus* sp.)叶片的光合作用,证明干旱造成气孔关闭,起到阻止植物脱水的第一道防线的作用,并同时阻断大气 CO_2 向叶肉组织的输送通道。

非气孔限制　许多的研究结果表明,干旱胁迫对光合作用的抑制往往不是气孔因素所致,而是由于干旱使叶绿体结构发生变化,植物膜系统遭受损伤,膜脂过氧化加剧而产生超氧自由基,光合色素严重降解,光合电子传递系统遭到破坏,合成酶活性下降、水解酶活性上升,从而导致光合速率下降。在干旱胁迫刚开始时,气孔处在关闭或半关闭状态,细胞间隙 CO_2 浓度下降;随着胁迫的加重,细胞间隙 CO_2 浓度保持不变,甚至有所增加。说明光合作用的下降不是由气孔关闭引起的,而主要是非气孔限制因素引起的,即叶肉细胞光合活性降低的缘故。

近来人们认为,在干旱条件下,植物的光合速率受到气孔限制和非气孔限制的双重影响。在轻度干旱胁迫的条件下,光合速率的降低是由于气孔限制造成的;而在中度或严重干旱胁迫下,主要是非气孔因素造成的。Farquhar 等提出检查气孔是否是光合速率下降的原因,既要看光合气孔限制值 Ls 的大小,同时还要看 C_i 的变化。所以,当光合速率下降时,如果 C_i 下降而 Ls 升高,说明光合速率的降低主要是由于气孔导度的下降所致;如果 C_i 升高,而 Ls 下降,则表明此时光合速率下降的原因是由于叶肉细胞光合能力的下降。干旱胁迫初期,气孔阻力增加会减少叶片水分散失,但 CO_2 供应减少又使细胞内 O_2 成为电子传递的受体而使活性氧自由基产生加剧。因此,胁迫初期光合的气孔限制一方面阻碍了胁迫的发展,减轻了光合器官的胁迫强度,另一方面也诱发了自由基引发的非气孔限制的产生。

(2) 干旱对光合色素的影响

许多研究发现,植物遭受干旱胁迫时,叶片叶绿素含量大幅度降低,干旱引起叶片叶绿素含量降低的可能原因有两个:①干旱直接导致叶绿素的降解;②干旱造成叶绿素的合成下降。在严重干旱胁迫下,叶片 Chl 总量、Chla 和 Chlb 含量均呈下降的趋势,Chla 和 Chlb、Chl 和类胡萝卜素比值增大,表明 Chlb 比 Chla、类胡萝卜素比叶绿素更容易受到干旱的伤害,然而有些植物可通过降低 Chlb 的含量而增加 Chla 的含量,这可能是植物对水分胁迫的反应或其抗旱能力的表现。但也有研究发现,蚕豆(*Vicia faba*)在干旱条件下,叶片叶绿素降解,Chla 和 Chlb 比值下降。也有研究表明,干旱胁迫 Chla、Chlb 及类胡萝卜素均有不同程度的增加。可见,不同植物对干旱的反应有很大的差异,叶绿素含量的变化并不是一个很好的抗旱性育种指标。

(3) 干旱对光能吸收转换、水光解和电子传递影响

Keck 和 Boyer(1974)用受到不同程度水分胁迫的向日葵叶片中分离出的叶绿体,分别测定通过光系统Ⅱ(PSⅡ)(H_2O→氧化型二氯酚靛酚)、光系统Ⅰ(PSⅠ)(还原型二氯酚靛酚→甲基紫精)以及全链(H_2O→甲基紫精)的电子传递速率。结果发现:当水势在 -1.0 ~ -1.1 MPa 之间时,PSⅠ和 PSⅡ及其全链的电子传递速率不受水势变化影响;当水势在 -1.1 ~ -1.7 MPa 时,三者的速率均随水势降低而逐渐下降;而当水势在 -1.7 MPa 以下时,这三者保持相对稳定的较低速率,通过 PSⅡ及全链的电子传递速率约为对照的 20% ~30%,而通过 PSⅠ的电子传递则为对照的 60%,表明 PSⅡ电子传递对水分胁迫比 PSⅠ敏感。事实上,干旱胁迫下的净 CO_2 同化速率总是比全链电子传递和净 O_2 产生速率下降的更显著,如 Cornic 报道,水分胁迫下的向日葵叶片,即使其净光合速率下降 80%,全链电子传递速率也没有降低,因为在干旱下即使 CO_2 的供应受到限制,植物仍然会以 O_2 作为电子受体,进行水 - 水循环。

大量的试验结果表明，干旱胁迫下，植物叶绿体光系统Ⅱ最大光化学效率（*Fv/Fm*）、**光化学猝灭**（photochemical quenching）系数（qP）、表观电子传递速率（ETR）值均显著下降，而**非光化学猝灭**（non-photochemical quenching，NPQ）升高。这说明在干旱胁迫下叶绿体 PSⅡ活性中心更易发生光抑制，受到损伤。非光化学猝灭是植物的一种自我保护机制，植物把吸收的光能以热能的形式散失而不发生光化学反应，从而减少自由基的生成，对光合机构起一定保护作用。

（4）干旱对光合酶活性的影响

干旱条件下，植物代谢过程的变化对光合作用的影响比气孔限制对光合作用的影响要复杂得多，干旱降低了碳同化及利用能力。植物的光合速率依靠酶活性，如 RuBP 羧化酶、1，5－二磷酸核酮糖羧化酶（Rubisco）及 PEP 羧化酶。RuBPCase 作为光合碳同化的关键酶，其活性高低直接影响光合速率的大小，因此，RuBPCase 活性降低常被认作是光合速率下降的非气孔因素之一。一些研究表明，Rubisco 的蛋白量和活性（包括原初活性、总活性和最大活性）在 RWC 90% 至 70% 或更低范围内不会大幅改变，但 Tezara 等发现在严重干旱胁迫下，Rubisco 活性会下降。Medrano 等报道，干旱胁迫的大田苜蓿叶片中，Rubisco 的原初活性和总活性降低，但 Rubisco 的蛋白量并不降低，说明 Rubisco 的催化位点被抑制物质所封闭，使 Rubisco 的活性受到影响。PEP 羧化酶同样也受到干旱的限制。在缓慢的土壤干旱过程中，小麦幼苗的 PEP 羧化酶活性同 RuBP 羧化酶一样，有一个上升过程，但随着干旱的推进，PEP 羧化酶活性下降。

（5）干旱对同化产物的运输的影响

在水分胁迫下，由于光合受抑制，故总碳水化合物含量减少，但各种碳水化合物的含量有增有减。一般情况是高分子化合物如淀粉含量减少，小分子的可溶性糖增加。高粱、小麦、玉米和豌豆在水胁迫下，糖均累积，其中玉米可增加 42%。植株的不同部分各种碳水化合物的变化不同，叶子中糖增加，茎中则可能减少。含糖量的增加主要是由于生长受抑制而不是淀粉的水解。缺水时常常促使蔗糖含量显著增强，有的植物如棉花己糖含量增加，蔗糖含量则减少。淀粉含量的减少可能由于光合下降，水解增强或合成减少。

至于同化产物的运输，曾有许多试验证明缺水可减慢有机物质的运输，在受胁迫期间同化产物可能积累在光合器官中。近来有证据表明在水分胁迫下光合产物在保证对其需要的条件下仍可迅速运出。如小麦叶子茎秆组织的相对含水量降低到 60%，相当于 －20 ～ －30 bar 的水势，同化产物仍能通过花基向麦穗活跃地运输（表 3－2），此外还有中等水胁迫能加快运输的情况。

表 3－2　水分胁迫对小麦植株中同化产物运输的影响（引自 Wardlaw，1967）

停水后天数	光合速率 /mg $CO_2 \cdot dm^{-2} \cdot h^{-1}$	同化产物运输速率/cm · h^{-1}	
		旗叶鞘	上部节间
0	12.4	33	45
2	13.2	42	36
4	12.3	27	39
6*	7.15	39	72

* 叶子萎蔫

在某些条件下，水胁迫可减低有机物在叶子里的运输。萎蔫的小麦叶子保存有大量同化产物，缓慢而持久的向外输出，可能受库（sink）能力的影响。运输过程包括装、运、卸以及源和库之

间的关系,在涉及水分胁迫的影响时都要加以考虑,不能简单地认为缺水只能促进或抑制同化物质的运输。

3.5.5 激素

植物激素是一类由植物体内产生的,并可由产生处向别处运输,对植物的生长发育起重要调节作用的微量有机物,目前植物激素主要分为生长素类、赤霉素类、细胞分裂素类、乙烯和脱落酸(ABA)五大类,它们中的某些种类,如 ABA,在植物应对干旱胁迫时发挥了极其重要的作用。

(1) 干旱与 ABA

在植物激素中,ABA 与干旱胁迫的关系最为密切,也是目前人们研究最多的一种逆境激素,在干旱胁迫下,植物体内的 ABA 大量积累,降低了气孔张开度,使光合速率降低,引起植物生长的下降。

许多实验证明,在干旱对植物生长的影响中,低水势并不会最先引起植物叶片的水分状况,如水势和膨压的变化。相反,人们发现影响地上部分生长的信号来自于根,而 ABA 就是这种干旱情况下由地下部分传向地上部分并影响了地上部分生长的信号。这一观点的证据来自于 1985 年由 Blackman 和 Davies 所做的玉米分根试验(图 3-10)。他们让一株玉米的根分别生长在两个盆内,让一边根系所在的土壤变干而另外一边根系所在的土壤仍充分灌水。与两边都充分灌水的处理相比,分根处理对于地上部分叶片的水分状况没有明显影响,但其气孔开度却明显下降。当干的一半土壤恢复供水后气孔导度又明显增大,并且恢复至对照水平。进一步的实验表明:若用刀片切除干旱土壤中的一半根,也会使叶片的气孔导度和伸长速率恢复正常。虽然这样做的结果并没有增加地上部分的水分供应,但却使植物的气孔导度和叶片伸长速率得到了恢复。早在 1989 年,Zhang 等在检测受旱玉米和向日葵木质部汁液 ABA 时发现,当植物部分根系的土壤干旱时,其木质部汁液 ABA 浓度迅速上升,气孔导度下降;当给正常供水的植株根尖饲喂 ABA 时,向日葵及玉米植株木质部 ABA 浓度也显著增加,且与气孔导度之间存在同样的相关关系。

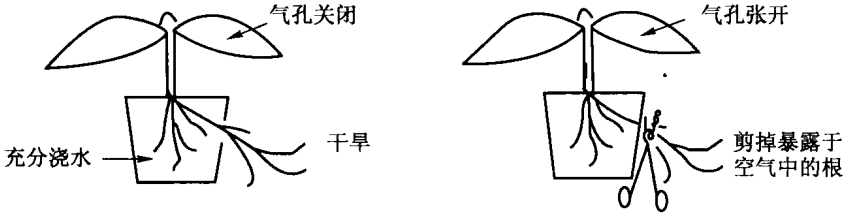


图 3-10 分根实验

植物的分根实验表明了,在干旱胁迫下,影响地上部分生长的并不是水分信号,而是植物激素 ABA。越来越多的实验结果显示,ABA 在植物体内的这种信息传递中起着主要的作用,当土壤变干时,根尖部位会对土壤水分的变化迅速做出反应,合成 ABA,并随蒸腾流通过木质部输送到叶片,直接到达保卫细胞的质膜外侧,与 ABA 受体结合,促使开放的气孔关闭,从而控制植物与外界进行的水分和气体交换。

早在 1991 年,Davies 和 Zhang 就提出,ABA 是干旱胁迫下从根部运往地上部分的长距离信

号,运往地上部分的 ABA 引起气孔的关闭和叶片生长下降,随着研究的进一步深入,目前对于植物体内 ABA 的合成、运输及其信号作用有了系统的了解。

当根系感受到渗透胁迫后,细胞质膜上的感受器把信号通过信号传递系统传递给下游,形成 ABA。目前,关于植物细胞是如何感知周围环境渗透变化的生化机制还不十分清楚。在各种逆境条件下如何启动 ABA 合成的?起初认为 ABA 合成的启动依赖水势阈值,后来梁建生等认为膨压是控制 ABA 合成的关键,即当膨压接近零时,ABA 才大量合成。通常认为膨压的变化是感知渗透胁迫的可能机制。贾文锁等用聚乙二醇(PEG6000)和乙二醇处理玉米根、叶,观察其在水分胁迫下 ABA 启动与调节结果表明:ABA 积累的启动与组织重量的减少或细胞体积有关,而与细胞水分相关参数(细胞内渗透势、水势和压力势)无关,但 ABA 积累的能力可受细胞内渗透势调节。乙二醇不能诱导 ABA 积累,说明 ABA 合成积累与细胞内渗透势无关。PEG 处理的叶片组织重量的减少,渗透势减少,ABA 含量上升。叶片细胞渗透势的减少是由细胞体积减少引起的,因为 PEG 不能渗透细胞内部。这表明 ABA 积累触发是与细胞体积有关。膨压为零时可能是细胞体积发生重大改变的水势临界值(贾文锁等,2002)。

高等植物中存在着两条 ABA 生物合成途径:(1)直接途径,即三个异戊烯单位聚合成 C_{15} 前体法呢基焦磷酸(farnesyl pyrophosphate,FPP),由 FPP 经环化和氧化直接形成 15 碳的 ABA;(2)间接途径,即先由甲羟戊酸(mevalonic acid,MVA)聚合成 C_{40} 前体 - 类胡萝卜素,再由类胡萝卜素裂解成 C_{15} 的化合物,如黄质醛(xanthoxin,XAN),最后由 XAN 转变成 ABA(Milborrow,2001;Taylor,2000)。现在越来越多的证据表明高等植物主要以间接途径合成 ABA。合成部位是在质体和原生质液中,合成后多贮存于质体内。

ABA 既能在叶片中合成,又能在根中合成,在正常情况下,除贮存于质体中的 ABA 外,叶片来源的 ABA 可以沿韧皮部向地下部分运输,根中来源的 ABA 可以沿木质部向地上部分运输,二者速度基本相同,形成一无效循环。但在干旱、盐渍等逆境胁迫下,从根中运往地上部分的木质部汁液中的 ABA 浓度急剧升高,远远高于从叶片向下运输的 ABA 浓度。木质部汁液中 ABA 含量的增加有三个来源,其一是干旱生境下叶片中质体内贮存的 ABA 卸出,经韧皮部向地下部分运输;其二为根部 ABA 合成大量增加;其三为土壤中的 ABA,土壤 ABA 来源于植物根系分泌的 ABA,另外土壤细菌也是合成 ABA 的一个来源。土壤 ABA 的存在使得在根和外界介质之间建立了一个 ABA 平衡。如果没有土壤中 ABA 的平衡,ABA 将从根中渗漏出来,这在很大程度上打乱根冠信号的传递。与植物体相似,在干旱土壤中,随着土壤中水分的散失其 ABA 浓度也将增加,其原因之一是根系周围的土壤干旱限制了根系从土壤溶液中吸收 ABA,同时干旱所造成的土壤高盐浓度、高的土壤紧实度,碱性 pH 等现象,也对根系吸收 ABA 都有影响(Sauter 等,2001)。但在这三者之间,ABA 含量增加的主要源头是根部 ABA 合成的增加。

但研究表明,土壤剖面不同部位根的 ABA 含量并不相同,当整个土壤剖面的水分快要消耗完时,根系 ABA 才明显增加,而且节根比种子根含有更多的 ABA。这是由于根系自身的生理异质性及其在土壤不同深度的分布不同所导致的,因此为了研究方便,人们主要研究木质部汁液中的 ABA 浓度。Liang 等(1997)观察到,木质部 ABA 浓度与根系 ABA 含量间存在近线性关系,表明木质部可以定量反映根源 ABA 的变化。Jia 和 Zhang(1996)研究表明,气孔开度与木质部 ABA 浓度有关,而与木质部流向叶片的 ABA 的量无关。实际上,尽管干旱胁迫下木质部汁液中的 ABA 含量大增,但叶片中的 ABA 含量却变化不大或稍有增加,根系向叶片运输 ABA 后主要积累

在表皮细胞和保卫细胞复合体的质外体中,导致气孔关闭。

在土壤干旱时,木质部汁液的 pH 变化在信号传递和气孔关闭中发挥了非常重要的作用。逆境胁迫常使植株木质部或质外体汁液呈碱性。Hartung 等(1989)观察到,经过连续两天的干旱胁迫,菜豆(*Phaseoluscoccioeu*)根系木质部汁液 pH 从对照的 6.3 升高到 7.2,汁液中的 ABA 浓度也从 2.5 μmol/L 升高到 15 μmol/L。在正常浇水的植物中,木质部和质外体的 pH 在 5.2 ~ 6.5 之间,而叶肉和叶表皮细胞胞质的 pH 为 7.2 ~ 7.4。ABA 是一种弱酸,它主要累积于叶片内偏碱的区域。质外体存在较多未解离的 ABAH,当木质部汁液中的 ABAH 随蒸腾流流向叶片的叶肉细胞时,由于 ABAH 是亲脂的,因而容易跨脂性膜进入叶肉和表皮细胞原生质中去。进入碱性细胞质后 ABAH 解离为 ABA^-。ABA^-是疏脂性分子,不能自由扩散出质膜,并且在叶肉细胞中能快速分解(Trejo 等,1993),从而维持 ABAH 不断向叶肉细胞扩散的浓度梯度。通过这种扩散吸收的方式,叶肉细胞从质外体分流大量的 ABA。当汁液携带剩余的 ABAH 到达表皮细胞附近时,表皮细胞以扩散和载体调控的方式进一步吸收 ABAH,因此保卫细胞周围质外体中已不再有足够高的可诱导气孔关闭的 ABA(Wilkinson 和 Davies,1997)。但当土壤干旱时,木质部汁液的 pH 升高降低了叶肉细胞和表皮细胞从质外体中分流 ABA 的能力,提高气孔保卫细胞周围汁液的 ABA,从而导致表皮细胞和保卫细胞质外体的 ABA 含量增加,引起气孔关闭(图 3 - 11)。

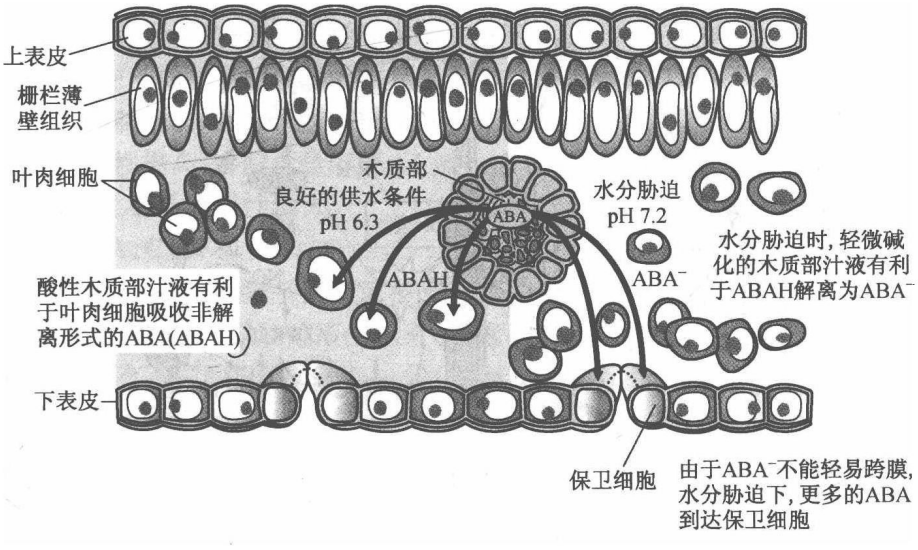


图 3 - 11 干旱对质外体 pH 的影响影响了 ABA 的分配

(引自 Taiz 和 Zeiger 等,2006)

如图 3 - 12 和图 3 - 13 所示,当 ABA 与保卫细胞膜上的受体结合,激活了膜上的磷酸肌醇信使系统,导致 IP_3形成并使 Ca^{2+}从液泡和内质网释放,胞外 Ca^{2+}也进入胞内,使胞质 Ca^{2+}浓度升高,抑制内向 K^+通道的开放,同时活化质膜阴离子通道,促使阴离子外流。通道介导的阴离子从保卫细胞中流出,可引起短暂的(R - 型)也可引起持久的(S - 型)阴离子流出和去极化现象。去极化抑制内向 K^+通道的同时活化外向 K^+通道使 K^+从保卫细胞中流出。保卫细胞中 K^+和阴离子的大量流出使胞内膨压降低,致使气孔关闭。因此,ABA 引起胞质 Ca^{2+}浓度升高、调节阴离子通道和外向 K^+通道是其诱导气孔关闭过程的关键。

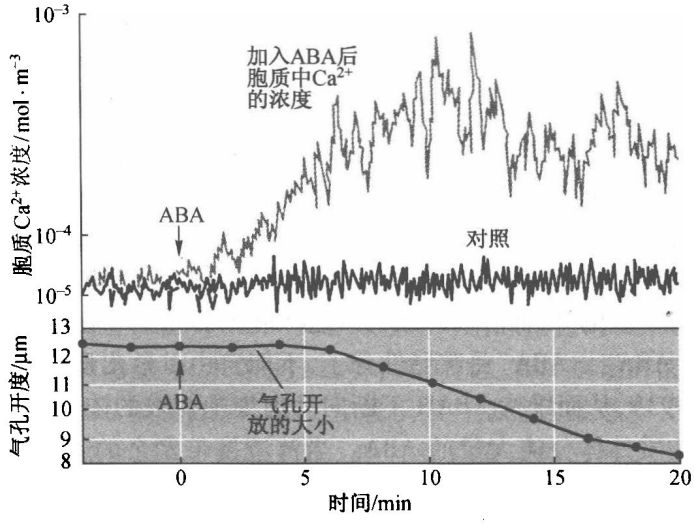


图 3-12 ABA 引起气孔关闭与 Ca^{2+} 内流有关

(引自 Taiz 和 Zeiger 等,2006)

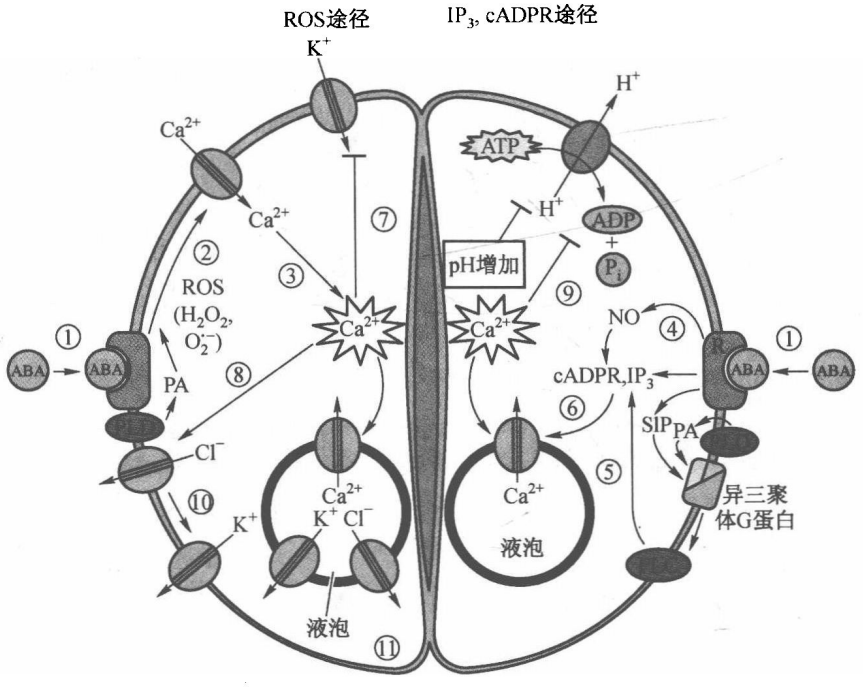


图 3-13 ABA 引起气孔关闭的机理

(引自 Taiz 和 Zeiger,2006)

当然也有人认为 ABA 并非干旱下引起气孔关闭和生长变慢的唯一的根系信号,在这方面澳大利亚的 Munns 做了大量的实验同 Davis 的学说进行辩论,如她 1988 年的实验结果表明:施加与土壤干旱诱导的植物体内等量的外源 ABA 于正常供水植株,小麦叶片的气孔导度降低了 15%,仅为土壤干旱抑制的一半;非胁迫小麦植株在用抽提出 ABA 的干旱处理木质部汁液饲喂后气孔关闭,这说明木质部汁液中的其他物质或许与 ABA 有相同的作用,因此我们必须考虑另外的

信号。

(2) 干旱与乙烯

自从 McMichael 等(1972)首次报道干旱时棉花叶片乙烯释放增加这一现象以来,许多学者对干旱诱导的乙烯(简称干旱乙烯)进行了研究。大多数实验采用离体叶片为材料(Aharoni,1978;Apelbaum 和 Yang,1981;Ben-Yehoshua 等,1974;Wright,1977;Apelbaum 和 Yang,1981)阐明了干旱乙烯的合成和基础乙烯一样,也以 Met(甲硫氨酸)→SAM(S-腺苷蛋氨酸)→ACC(1-氨基-环内烷-1-羧酸)→ETH(乙烯)的途径合成。Hoffman 等(1982)的工作进一步指出,干旱时,乙烯的前体 ACC 除了可以转变成乙烯之外,还可通过丙二酰基化作用转变成 MACC,从而调节乙烯的生成。但陈益民、余叔文、王洪春等研究发现在空气干旱时乙烯含量增加,而在土壤整体干旱条件下乙烯释放量并不增加。

植物遭受干旱胁迫时常会造成电子传递泄漏的增加,导致体内活性氧的积累和脂质发生过氧化。在细胞受到伤害时乙烯生成量急剧增加,并反过来加速细胞膜的损伤与破坏。乙烯产生速率与膜脂过氧化密切相关,并同精胺(Spm)和亚精胺(Spd)等多胺的代谢密切相关,Spm、Spd 和乙烯具有相同的合成前体 SAM,多胺能阻止膜脂的过氧化和抑制乙烯合成以及参与各种逆境胁迫的应答。通常认为 SAM 库不足时会引起乙烯与 Spm 和 Spd 生物合成中底物的竞争。Li 等的研究表明,当甘草幼苗受到渗透胁迫使细胞膜发生损伤时,多胺含量与乙烯产生量呈显著负相关;小麦幼苗遭受严重干旱胁迫时,乙烯与多胺通过活性氧而相互影响。刘建新等发现干旱胁迫下多裂骆驼蓬叶片中乙烯和多胺合成的相互制约调节着活性氧的水平和膜脂的稳定。严重干旱诱导多胺的合成,抑制了乙烯的产生,保持胁迫初期活性氧的低水平和膜脂的稳定;随着干旱的持续,多胺氧化酶活性提高,多胺含量下降,乙烯生成和活性氧产生速率增大,活性氧大量积累,导致膜脂发生过氧化而质膜透性增大。

(3) 干旱与 IAA、CTK 和 GA

干旱影响着植物体内的激素平衡。但在干旱条件下,植物体内水分状况与植物激素变化的关系却无定论,一般人认为干旱胁迫下生长素、细胞分裂素与赤霉素含量下降(许旭旦,1988;董永华等,1998),但也有不同的报道,如 Yang 等(2008)发现大米小穗减数分裂期在干旱处理时其组织内生长素(IAA)、细胞分裂素(玉米素和玉米素核苷)以及赤霉素(GA_1和GA_4)的含量并没有明显变化,而减数分裂期是植物一生中对缺水最为敏感的时期。Ludwig-Müller(1995,2008)发现在干旱胁迫下,玉米、大豆等植物体内的吲哚丁酸(IBA)含量增加,而 IBA 是植物体内活性较高的一种内源生长素,其活性在植物发育的某些阶段甚至超过了 IAA,并可与 IAA 相互转化,Ludwig-Müller 发现 IBA 合成酶的活性在干旱或 ABA 处理时,会被提高。

一些研究结果表明,细胞内的 IAA 和 GB 与植物的抗氧化酶活性及其光合酶活性有关,如董永华等发现在土壤干旱过程中叶面喷施 2×10^{-5} mol/L 的 IAA 或 5×10^{-4} mol/L 的赤霉素阻止小麦幼苗磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性的变化。对于超氧物歧化酶(SOD),IAA 使其活性强化,而 GA_3则对其起着抑制作用。IAA 还能提高干旱条件下小麦幼苗的叶绿素含量,但对于气孔阻力和叶水势影响不大;而 GA_3对叶绿素含量、气孔阻力和叶水势均无明显影响。

有关细胞分裂素与干旱关系报道较少。气孔在干旱胁迫下发生关闭,一般认为与 ABA 的增加有关,而其开启则与细胞分裂素增加有关。CTK 主要在根系中合成,经干旱或渗透胁迫处理的

根系木质部汁液中 CTK 含量明显下降,如 Bano 等(1993)在水稻上发现水分胁迫下叶气孔导度下降,木质部汁液中的 CTK 含量下降了 4 倍,但分根实验表明根中合成的 CTK 不能控制叶片的气孔导度。CTK 与气孔关闭的关系可能是土壤干旱影响了根中 CTK 的合成,缺水阻碍 CTK 的运输,但 CTK 可能并不直接控制叶片气孔开度,是 CTK 和 ABA 之间平衡关系的改变或许调节了干旱下植物的气孔运动。

3.5.6 干旱与蛋白质

蛋白质是生活物质的主体,植物组织、器官和个体的生长和繁殖依靠蛋白质不断地合成、而蛋白质的合成又受核酸的控制。蛋白质在合成的同时也在进行分解,也就是不断地在更新,不如此就不能最经济地利用生活有机体中最宝贵的成分。明确水分胁迫对这些过程有些什么作用,显然对了解植物的抗旱性能极为重要。

缺水对于蛋白质合成和分解的影响。多数试验结果表明水分胁迫可降低蛋白质与氨基酸的比值或植株内蛋白质的含量,但也有相反的报道。用小麦试验结果预示缺水可使蛋白质含量稍微增加,随着土壤水分继续下降,蛋白质含量即显著减少,复水后则又增加。甜菜叶子的可溶性蛋白质、总蛋白质的含量当供水停止时,即逐渐下降,在严重萎蔫时可降低到对照的一半。缺水对蛋白质含量的影响,可能由于合成受抑制,分解加强,或者分解超过合成。许多试验证明干旱既抑制蛋白质的合成也加快蛋白质的分解。缺水对蛋白质合成和分解的影响很迅速,例如玉米,在干旱胁迫下最初 6 h 内游离氨基酸的含量增加 20%,而在 48 h 后当叶水势降到 -18 bar 时,氨基酸含量增加到 250% 以上。温和的水胁迫即可迅速而可逆地减少正生长的组织中蛋白质的合成,用以下试验结果可以证明。①同位素标记的氨基酸掺入蛋白质中减少。②多聚核蛋白含量显著减低。③用抑制剂环己亚胺(系肽链加长的抑制剂)试验证明缺水抑制蛋白质的合成主要在翻译水平而不是在转录水平上。缺水时氨基酸含量增加可以证明蛋白质的分解加速。此外核糖核酸酶、肽酶及蛋白酶活性均增强,可以间接证明蛋白质的分解加快。蛋白质水解后生成游离氨基酸,蛋白质是由 20 种氨基酸组成的,由于水解生成的氨基酸可以继续分解直到产生氨,也可相互转化或转化成其他化合物。如果合成仍在进行,分解的产物也可用于再合成。实验证明分解生成的氨基酸的种类和每一种的数量有相当大的变化。小麦叶片受旱后氨基酸大量累积,其中以脯氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、酰胺和 NH_3 等比较对照显著增多;而天冬氨酸、丝氨酸和谷氨酸等则减少,也有报道证明色氨酸含量亦减少,其余氨基酸含量变化不大。有人提出分解产生氨对植物有毒,可能使组织有害,酰胺和其他氨基酸含量增加可能解除 NH_3 过多的毒害。

许多逆境因子如高温、低温、干旱、盐渍、大气污染、紫外线、病原菌、活性氧胁迫等,都会引起植物基因表达的变化,使植物体内原来正常蛋白的合成受阻,而诱导产生一类新的蛋白质,即逆境蛋白(stress protein)。

水分胁迫能够诱导植物产生特异性蛋白质,且这些特异性蛋白质的产生可能与植物的生理生化过程变化有关。干旱胁迫蛋白按功能分成两大类,第一大类是在植物的抗性中起作用的蛋白质,这些蛋白质可细分为以下 6 种:

第一种是一类水通道蛋白(aquaporin,AQP),这类蛋白质可以形成选择性的水运输通道,提高细胞膜的透水性,便于水分摄入,从而使脱水胁迫下的细胞保持一定的膨压,以维持正常的生命活动。另外还有其他运输蛋白,如糖运输蛋白和脂运输蛋白等。

第二种是保护生物大分子及膜结构的蛋白质,以维持细胞结构、功能稳定性,如冷调节蛋白及胚胎发育晚期丰富蛋白(late embryogenensisi abundant protein,LEA)等。这类蛋白质多具有保守的序列单元,含较多的极性氨基酸残基,它们一般具有热稳定性,不易变性,可创造一种起保护作用的水相环境,防止其他蛋白质进一步变性,甚至能帮助已变性的蛋白质复性,如分子伴侣(chaperone)。胁迫导致一些蛋白质变性,分子伴侣可以防止蛋白质及膜的进一步变性。

第三种是合成渗透保护物质(脯氨酸、甜菜碱及多元醇等)的关键酶类。在各种干旱胁迫蛋白质中酶类占很大一部分,各种作用不同的酶被大量诱导,首先就是渗透调节物质的合成酶类。这类酶可通过诱导产生,使得渗调物质的合成大大增加,来降低细胞的渗透势,提高植物的抗胁迫能力。例如脯氨酸合成中的关键酶吡咯啉-5-羧酸合成酶(P5CS)、甜菜碱合成中的甜菜碱脱氢酶(BADH)以及与 ABA 合成有关的酶。

第四种是具保护作用的蛋白酶类,如巯基蛋白酶(thiol protease)等,此酶可降解变性蛋白质,为新蛋白质的合成储备原料。另外还发现干旱胁迫诱导各种形式的半胱氨酸蛋白酶,以降解干旱胁迫下失活的蛋白质。

第五种是抗氧化作用的酶类,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等。植物在逆境因素的作用下会产生活性很强的活性氧(ROS),而此类酶可抵御由 ROS 所引起的氧化损伤,从而提高植物抗胁迫能力。

第六种是调控代谢途径改变的一些酶类,如光合途径、呼吸途径中的一些酶类。

第二类水分胁迫诱导蛋白在信号转导或基因表达中起调节作用。它们主要有磷脂酶 C、磷脂酶 D、各种蛋白激酶如 MAPK 和 CDPK、G 蛋白、钙调素以及转录因子、组蛋白等。研究发现植物在环境胁迫刺激下,体内这些蛋白质合成增加,通过它们将信号不断传递并放大。现在发现的转录因子不仅有 MYB、MYC、bZIP 等,最近还在拟南芥中发现与 DRE 序列特异结合的反式转录因子 DREBZA 和 DREBZB 也可以被脱水所诱导。

(1) 水通道蛋白

水通道蛋白是指植物中一系列相对分子质量为 $26\times10^3\sim34\times10^3$、选择性强、能高效转运水分子的膜内在蛋白。水通道蛋白构成水分运输的特异性通道,能增强细胞膜对水分的通透。

水通道蛋白的发现和种类　1988 年,Agre 等在分离人红细胞中 Rh 蛋白时,在红细胞膜上发现了一个相对分子质量为 28×10^3 的跨膜多肽。这种多肽非常丰富,分布广泛,也见于人类肾脏、大脑和植物体中。Agre 等(1991)克隆到该蛋白的 DNA,并把相应的 RNA 注射到爪蟾卵母细胞内。有 10 个注射了互补 RNA 的爪蟾卵母细胞能产生这种蛋白质,并具有水通透性,在纯水中,发生肿胀破裂。而对照组不能肿胀。另外,证明该蛋白只能让水通过。随后,在许多动、植物及微生物中相继发现的类似的专一性运输水的通道蛋白被统称为水孔蛋白。现已在植物中发现了多种水通道蛋白,根据序列同源性可分为 4 类:①液泡膜内在蛋白(tonoplast intrinsic proteins,TIPs),定位于液泡膜上;②质膜内在蛋白(plasma membrane intrinsic proteins,PIPs),定位于细胞质膜上;③根瘤菌共生膜上的内在蛋白(nodulin 26 like membrane intrinsic proteins,NLMs 或 NIPs),其中 NOD26(nodulin26)比较明确,分布于豆科根瘤共生体膜上,其他成员在细胞中的定位未知。NOD26 由 271 个氨基酸残基组成,除运输水分以外,对甘油、甲酰胺等不带电的溶质分子也具有较高的通透性。④ 小分子碱性内在蛋白(small basic intrinsic proteins,SIPs),是 Chaumont 等(2001)在研究玉米 MIO 的结构与分类时发现的一类新的 MIP,其序列与 PIP 和 NIP 相

似,主要分布在内质网膜上。

水通道蛋白的结构　水通道蛋白都是 MIP(major intrinsic protein)的通道蛋白家族中的一个类群,相对分子质量在 $25\times10^3\sim30\times10^3$ 之间。水通道蛋白的结构都具有 MIP 家族结构的典型特征,即含 6 个跨膜 α-螺旋区段,其氨基末端和羧基末端都位于细胞质侧,有三个膜外环(LA、LC 和 LD)和两个膜内环(HB 和 HE)。其中 HB 和 HE 分别为第 2 个与第 3 个、第 5 个与第 6 个跨膜区段间膜内半环,都含有保守的 NPA 序列(天冬酰胺-脯氨酸-丙氨酸 Asn-Pro-Ala,NPA),HB 和 HE 以相反的方向排列在膜脂双分子层中,形成对称的分子结构,对水孔蛋白通道的形成及选择性有重要作用(图 3-14)。水孔蛋白的三级结构如图 3-15 所示,2 个含有 NPA 序列的半环位于水孔蛋白的中心部位,彼此相邻,形成水通道蛋白通道的最窄部分。人红细胞的水通道蛋白的通道的最窄部位大约 0.3 nm,它比水分子的直径(0.28 nm)稍大一些。所以,有人认为,NPA 单元的存在使水通道蛋白对水具有选择性。水通道蛋白一般以同型四聚体的形式存在,水分子则是从每个亚单位的中心穿过。结构的多样性是植物水通道蛋白的特点,在拟南芥中水孔蛋白有 23 种同工形式。

存在于液泡膜上的 TIPs 水通道蛋白对细胞的渗透调节也起着重要的作用。在许多成熟的植物细胞中,液泡占据细胞内大部分体积,而原生质仅仅占据液泡与原生质膜之间的狭小空间。液泡膜上 TIPs 的存在,其导水性是 PIPs 的上千倍,有利于水分的快速转移,可以使植物细胞有效地利用巨大的液泡空间来缓冲细胞质内的渗透波动及细胞质的稳态,保证各种代谢的顺利进行。

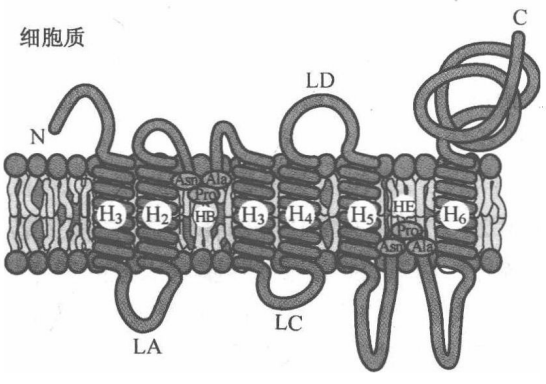


图 3-14　水孔蛋白的结构

(改自 Buchanan 等,2000)

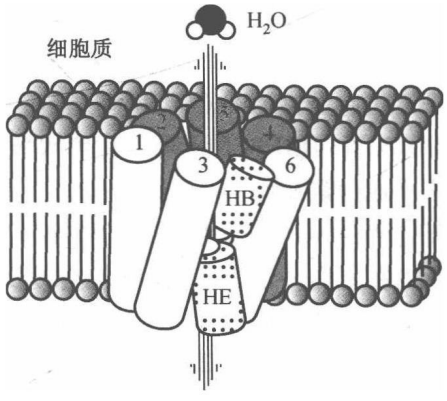


图 3-15　水孔蛋白的三维结构模型

(引自 Maeshima,2001)

水通道蛋白的调控 AQPs 的调节机制可以大致分为两种:

一种是通过调节 AQP 的活性来调节其功能,磷酸化是一个重要调节手段。当 AtTIP 在非洲爪蟾卵母细胞表达体系中被磷酸化后,其水通道活性提高 1~1.5 倍,NOD26 特定位点的直接磷酸化也可以改变其活性。质膜蛋白激酶能将该蛋白第 274 氨基酸位置上的丝氨酸磷酸化,此磷酸化作用依赖于 Ca^{2+}。PM28A 水通道蛋白的活性也受这种磷酸化作用调节,当加入磷酸化酶抑制剂时膜透水性增加,而加入蛋白激酶抑制剂则有相反的效应。环境条件可能是通过改变水通道蛋白的合成和开闭这两种机理改变了不同途径对径向水流的贡献。

另一种调节是通过改变膜上 AQP 的含量来调节水的跨膜运输。细胞可以通过改变水通道

蛋白的合成速率来实现基因水平调控此类调节，因此，当植物受发育、干旱、低温、脱落酸、生长素等因素的影响时，会导致 AQP 的表达发生变化，从而对环境作出适应。如 Morillon 等研究结果表明，油菜素内酯可改变拟南芥质膜的水分通透性，这一效应可能与 AQP 有关；Hose 等发现 100 ~ 1 000 nmol/L 的 ABA 可增加离体玉米根组织和细胞水平的导水率，他们认为 ABA 可能是通过与 AQP 的相互作用而改变质膜水分透性起作用。

水通道蛋白与植物的抗旱性　植物 AQP 的功能可归纳为：①促进水的长距离运输：水从植物根到叶的长距离运输有 3 条途径：**共质体途径**（symplastic pathway）、**质外体途径**（apoplastic pathway）、**跨膜途径**（transmembrane pathway），AQP 在跨膜途径中起主要作用；②在逆境应答等过程中促进细胞内外的跨膜水分运输，调节细胞内外水分平衡，该过程由质膜 AQP 来完成；③调节细胞的膨胀和紧缩：通过存在于液泡膜上的 TIP，使水快速出入液泡以保证细胞能迅速膨胀和紧缩；④运输其他小分子物质：所谓 AQP 对水分运输的专一性是相对的，目前在植物中也发现少量 AQP 可同时运输其他小分子物质，如前面所述的 NOD26 等。CO_2也可透过 AQP，若把 AQP1 重组进膜后，水分和 CO_2的通透性明显提高，并可为 $HgCl_2$抑制和巯基乙醇所逆转。AQP1 在爪蟾卵母细胞中表达后，CO_2通透性可增加 40%。在蓝细菌中，CO_2的吸收是一个 AQP 介导的被动的过程，可为 AQP、电子传递抑制剂所抑制，这说明水分与 CO_2转运密切相关。

AQP 参与水分的快速跨膜转运，促进长距离或短距离胞间水分流动以及液泡与胞质间、胞质与质外体间的渗透调节，有专一性、高效性、可调控性和活性差异性。如 ZmPIP2a 可增加爪蟾卵母细胞质膜水分透性 8 倍，而 PIP2 亚家族可增加水分透性 5 ~ 20 倍。

AQP 可以维持木质部薄壁细胞与蒸腾流间的水势平衡，即使在轻度水分胁迫下木质部导管中水分大多运送到地上部分，但如果导管蒸腾流水势高于薄壁细胞时，水分可通过虹吸作用贮存于液泡中，木质部薄壁细胞起贮水库的作用。水分跨越薄壁细胞质膜和液泡膜由 AQP 完成，蒸腾流中水的张力通过调节胞质中的 Ca^{2+}浓度而调节 AQP 的活性。

AQP 还参与栓塞功能的补偿。近年来，人们发现根的轴向导水阻力受木质部导管中栓塞的存在与否影响很大，栓塞的形成可显著降低导管导水率，这表明水分张力增大，因而可诱导气孔关闭。由于栓塞的形成，仅在导管的管壁及纹孔场壁覆盖一层水膜，因此，溶液浓度高，水势低，当 AQP 被木质部薄壁细胞质中高浓度 Ca^{2+}激活开启后，水分就可从薄壁细胞流入导管。

AQP 还能防止渗透伤害。研究发现，轻度水分胁迫下，叶肉细胞失水、气孔关闭。若胁迫进一步加重，细胞则处于静息状态，重新供水时，细胞又恢复正常生理状态。AQP 参与了所有这些过程。AQP 在细胞水分平衡中可阻止干旱条件下的水分丢失，这就为植物采取诸如合成渗透调节物质等途径，防止干旱胁迫赢得了时间。

（2）胚胎发育晚期丰富蛋白

胚胎发育晚期丰富蛋白（late embryogenensis abundant protein，LEA 蛋白）是种子发育后期产生的一类小分子特异多肽，大部分相对分子质量在 $10 \times 10^3 \sim 30 \times 10^3$ 之间，少部分在 30×10^3 以上，它是伴随着种子成熟过程而产生的，并在种子吸水萌动的几个小时后消失。后来研究认为这类蛋白与植物耐脱水性密切相关，受植物的发育阶段和脱水信号等调节。LEA 蛋白广泛存在于高等植物的种子中，能够在水分亏缺时保护膜系统及其他生物大分子免受破坏。到目前为止，人们先后在小麦、大麦、番茄、大豆、胡萝卜等近 20 种高等植物发育种子中检测到 LEA 蛋白。此外，离体胚和许多营养组织在外源 ABA、渗透或低温胁迫的诱导下也能产生特异的 LEA mRNA

和 LEA 蛋白。说明 LEA 蛋白虽是阶段发育专一的,但可以被诱导,且无组织专一性。

LEA 蛋白的分布　LEA 蛋白存在于植物的不同器官中,在单子叶和双子叶植物幼苗中的干燥种子胚中存在的 PvLEA－18 基因编码的相对分子质量为 14×10^3 的蛋白,在水分胁迫下,豆类幼苗各组织皆可产生此类蛋白。但一般认为,LEA 蛋白不存在于蛋白体中,主要存在于细胞质中,尤其在胚细胞的胞质中具有很高的浓度。最近也有发现定位于细胞核中的 LEA 蛋白。Jose (1999)等通过免疫学分析表明 PvLEA 定位在所有细胞核和细胞质区域,在柱形组织和导管中大量积累,特别是在水分胁迫下,初生木质部细胞和根分生组织中该基因具有较丰富的表达。Covarrubias等在受水分胁迫的菜豆中检测出的两种细胞壁糖蛋白 P33 和 P36,就主要积累在幼苗下胚轴的延伸生长区。

LEA 蛋白的种类　LEA 蛋白都具有高度亲水性,大多数 LEA 蛋白缺乏半胱氨酸和酪氨酸残基,但富含赖氨酸和甘氨酸。根据 LEA 蛋白的一级结构可将 LEA 蛋白分成 3 类:第一类是 *Em* 基因的产物,如小麦 EM;第二类是 *RAB*(responsive to ABA)和脱水素(dehydrin)基因的产物(脱水素等);第三类是其他 *LEA* 基因产物,如胡萝卜的 DC3、DC8,大麦的 HVA1,桑葚的 WAP27,玉米的 *MLG3* 基因的表达产物等。根据 LEA 蛋白的氨基酸序列的同源性及一些特殊的基元序列可将其分为 6 组:第 1 组,具有多拷贝串联的 20 个氨基酸残基组成的保守序列,该序列富含高比例的带电荷氨基酸和甘氨酸,如棉花的 LEAD19、小麦的 Em、胡萝卜的 EMB21、玉米的 E564、大麦的 B19、拟南芥的 ALE 等 LEA 蛋白。该组蛋白具有较高的水合能力,可作为水分结合蛋白,防止细胞在干旱胁迫时水分流失。第 2 组,也称**脱水素**(dehydrin),如棉花的 LEAD11 等,由高度保守的、富含赖氨酸的基元序列 *K*2 片段(EKKGIMD2K IKEKL PG),可磷酸化的丝氨酸残基 S_2 片段,N_2 末端的一些保守序列 Y_2 片段以及其他小的、保守的重复区域 U_2 片段拼接组成,多肽的长度一般为 82～575 个氨基酸残基。该组蛋白的可能作用是:①在植物受到干旱胁迫时,可部分代替水分子,保持细胞液处于溶解状态,从而避免细胞结构的塌陷,稳定细胞结构,尤其是膜结构;②起分子伴侣和亲水性溶质的作用,在水分胁迫时稳定和保护蛋白质的结构及功能。第 3 组,如棉花的 LEAD7、线虫的 Avelea1 等 LEA 蛋白,其同源序列区域包括 11mers 氨基酸基元序列(TAQAA KEKA GE)的串联重复排列,基元序列形成亲水的 α－螺旋结构。根据其羧基末端氨基酸序列的有无将之再细分为 2 种类型:Group3 LEA(Ⅰ)和 Group3 LEA(Ⅱ)。该组蛋白能避免干旱胁迫时细胞内高浓度离子的累积所引起的损伤,同时也可防止组织内过度脱水。第 4 组,如棉花的 LEAD113、Lea14、Craterostigma PGC27245 等。这类蛋白含有一个比较保守的 N_2 末端区域,可形成兼性 α－螺旋,并提供一种黏着层,起束缚离子的作用或形成一种保护结构,在干燥脱水时,能保持膜稳定性。第 5 组,如棉花的 LEA D29、D34,胡萝卜的 DcECP31,拟南芥的 AtEC31 等 LEA 蛋白。该组蛋白与第 3 组类似,但缺乏高度残基的专一性,可能与种子成熟及耐脱水性有关,也可能结合细胞脱水过程中的浓缩离子。第 6 组,如棉花的 LEA D95 等。

LEA 蛋白的生理功能　LEA 蛋白的出现是植物对干旱胁迫的一种适应性的保护反应,其生理功能与每一类 LEA 的结构密切相关,但其主要作用在于提高植物的保水能力,并进行渗透调节。在干旱脱水过程中,细胞液的离子浓度快速升高,而过高的离子浓度会造成细胞的不可逆伤害。许多 LEA 蛋白氨基酸序列的保守区域,可形成双亲性 α－螺旋结构,提供一个疏水区的亲水表面,螺旋的疏水面可形成同聚二聚体,处于亲水表面的带电基团可螯合细胞脱水过程中浓缩的离子;而组成 LEA 蛋白的氨基酸多为碱性、亲水性氨基酸,尤其富含甘氨酸、赖氨酸等亲水氨基

酸,而疏水氨基酸含量很少,具有很高的亲水性和热稳定性,可以重新定向细胞内的水分子,束缚盐离子,以减轻脱水造成的不良影响。

(3) 渗调蛋白

渗调蛋白是随着渗透胁迫而产生的相对分子质量为 26×10^3 的蛋白质,又称为渗调素(osmotin),它是一种阳离子蛋白,多数以颗粒状存在。可能在渗透胁迫下,其本身吸附水分或改变膜对水的透性,减少细胞失水,维持细胞膨压;螯合细胞脱水过程中浓缩的离子,减轻离子毒害作用,还可能通过与液泡膜上离子通道的静电相互作用,减少或增加液泡膜对某些离子的吸入,改变该离子在细胞和液泡中的浓度,来传递胁迫信号,诱导胁迫相关基因的表达,从而增加植物对胁迫的适应性。

渗调蛋白的存在具有普遍性,首先是在烟草悬浮细胞中分离获得,而后又在番茄、马铃薯、矮牵牛等植物中发现渗调蛋白的存在。Singh 等(1983)详细分析了不同浓度 NaCl 和 PEG 溶液处理烟草细胞的蛋白质组成,发现相对分子质量为 26×10^3 的蛋白显著上升,可达细胞总蛋白的 12% ~13%,其含量与细胞的抗逆性呈正相关。King 等(1988)从番茄细胞纯化了相对分子质量为 26×10^3 的蛋白,测定全部氨基酸序列,DNA 序列证实该蛋白有 226 个氨基酸,相对分子质量为 24×10^3,因此被定名为 NP24 蛋白,其与烟草细胞渗调蛋白同源性可达 92%。

渗调蛋白在根、茎的外围组织、花冠和未成熟花芽中含量最丰富,而在髓部组织测不到渗调蛋白的合成。ABA 诱导的渗调蛋白大量地存在根部,叶和叶柄中检测不到,种子中也没有检测到。因而,渗调蛋白不是种子储藏蛋白。从细胞和亚细胞水平上看,在适应盐胁迫的烟草细胞中,渗调蛋白主要集中在液泡的内含体中,尽管不存在于细胞器、细胞壁或质膜之上,但稀疏地分布于细胞质及细胞核的可溶组分中。在烟草植株中也发现一些渗调蛋白积累于叶片细胞以外的组织。

Sing 等对这种相对分子质量为 26×10^3 的蛋白进行纯化和生化鉴定,氨基酸组成和序列测定表明:渗调蛋白与甜蛋白、病原相关蛋白、玉米胰蛋白酶、α - 淀粉酶分别有 54%、64%、62% 的同源性,表明渗调蛋白的积累也可能是植物生长受抑,适应逆境所产生的一种原初免疫反应,可能作为一种新型的脱水储存蛋白,并具有抗真菌活性。

渗调蛋白的功能主要通过其定位、结构特征和一些生理现象来确定。其可能功能为:①渗调蛋白是一种逆境适应蛋白,不是胁迫蛋白;②ABA 也能诱导渗调蛋白,而且诱导的水平与内源 ABA 的水平紧密相关,因此渗调蛋白可能涉及渗透调整或降低离子毒性;③细胞的渗调蛋白定位于液泡,这是离子分室性积累的场所。植物的渗调蛋白积累在根,是最先涉及离子吸收和运输的器官。所以,渗调蛋白可能与植物适应渗透胁迫有密切的关系。许多渗调蛋白集中在液泡中,液泡中含有较高水平的渗调蛋白。因此,渗调蛋白可能是一种渗透适应过程中形成的脱水储藏蛋白。

(4) 组蛋白

组蛋白(histones)是存在于生物染色体上的一类低相对分子质量的碱性蛋白,组蛋白对染色体的结构起重要的作用。染色体是由重复单位——核小体组成。每一核小体包括一个核心 8 聚体(由 4 种核心组蛋白 H2A、H2B、H3 和 H4 的各两个单体组成),长度约为 200 个碱基对的 DNA,和一个单体组蛋白 H1。长度约为 140 个碱基对的 DNA 盘绕于核心 8 聚体外面。每种核心组蛋白均有 2 个结构域:组蛋白的折叠区和氨基末端结构域。前者与组蛋白间的相互作用及

缠绕 DNA 有关,后者像一条尾巴,富含赖氨酸,具乙酰化的位点。研究发现,组蛋白有多种翻译后的修饰,包括甲基化、乙酰化、磷酸化以及 ADP 核糖基化等。在植物发育过程和植物与外界环境的关系中,选择性的诱导与抑制是基因表达的重要特点。组蛋白的修饰(methylation)在调控基因转录的过程中扮演了重要的角色,是基因转录调控的关键步骤。这些发生修饰的尾部能伸出染色质的表面,提供与其他蛋白相互作用的界面。因此组蛋白修饰的作用除了影响核小体和染色质的结构外,还为其他蛋白或蛋白模块的结合提供识别"语言"标记,有人把这种标记语言称为"组蛋白密码"。植物中的组蛋白与个体发育、细胞组织特异性以及胁迫反应等均相关。如 Raghvan(1992)等人以水稻组蛋白 H3mRNA 为探针对天仙子(*Hyoscyamus niger*)花药进行原位杂交发现,在花药发育早期阶段,花药原基细胞中杂交信号分布均匀;在其后的发育过程中,组蛋白 mRNA 从表皮外层开始到药室内壁有顺序地积累。组蛋白 H3 末端的 21 个碱基对的合成因子在种子受水淹过程中能促进转录激活。在 *RH3* 参与的水稻对褐飞虱的应激反应中,*RH3* 的表达上升使水稻产生抗虫效应。组蛋白的多种翻译修饰,如甲基化、乙酰化、磷酸化等在调控基因转录过程中发挥了重要的作用。邱生平等(2007)从盐处理的水稻幼苗组织中分离了一个新的水稻组蛋白 H3 的基因 *RH3.2A*,编码具有 136 个氨基酸残基的多肽,与多种植物的组蛋白 H3 蛋白具有高度的氨基酸一致性。在研究了 *RH3.2A* 基因在高盐和 ABA 胁迫下的表达后发现,在水稻根部 *RH3.2A* 基因受高盐的强烈诱导,而在叶片 *RH3.2A* 基因的表达则不受高盐诱导,此外 *RH3.2A* 基因也受外源 ABA 的诱导,他们认为 *RH3.2A* 基因能参与了依赖于 ABA 的高盐胁迫应答反应。最近,从水稻 cDNA 文库中分离出一个抗病相关基因,实际上该基因编码组蛋白 H3。有关植物组蛋白 *H3* 基因的结构、功能及表达调控等方面尚有许多工作要做。

H1 组蛋白又称为连接组蛋白(linker histone),在蛋白质中具有相当的丰度并具有重要的结构意义,但其作用却非常神秘,实验证实即使将 *H1* 基因敲除或沉默也不会对生物体的结构及发育造成明显的影响。H1 具有 6 种类型,H1A 和 H1B 占总量的 80%,其他几种微量的 H1C、H1D、H1E 和 H1F 占总量的 20%。Prymakowska-Bosak 等(1999)报道在干旱情况下若大量 H1 蛋白与微量 H1 蛋白的比例反转会导致小孢子母细胞减数分裂受阻并导致雄性不育,而 Wierzbicki 等用半定量 RT-PCT 和 Western blotting 分析表明 H1C 的表达并不受干旱处理所诱导。

3.5.7 植物发育

干旱对植物发育的影响。缺水可延迟或阻止高粱、向日葵、烟草、羽扇豆等多种作物营养体花原基的产生和分化。有些表面上和休眠相似,暂时停止发生,复水后能重新恢复到接近对照水平。但也有报告指出短期温和的水分胁迫可减少叶子数目。高粱接近花芽发生时的水分胁迫可减少叶子数目多至 3 个。缺水减少豇豆小叶数目而不是影响其大小。

花器官的发生和发育。对于无限花序的植物如大麦,轻度水分胁迫可减少大麦花原基的发生,如果历时不久,解除胁迫后其发生率加快可超过对照,结果总的小穗数目不受影响,如胁迫严重或持久时,小穗数就会减少。对于有限花序的植物如高粱,在花器官发生的不同时期给予严重的缺水萎蔫处理 1 周以上,则在处理期间花序的发生中止,但复水后能够恢复,结果在开花时花序的大小和对照植株没有什么差别,只是开花期延迟约 10 d。如果将几组植株在花原基发生时同时停水,各组分别给予不同期限,如 1、2、3 周的缺水,结果所有处理的花原基和对照组同时产生,但缺水组花序不延长,直到恢复供水为止,以后的发育和对照同样进行,然而花序的出现,依

次延迟。严重的缺水对向日葵花原基的产生也没有显著影响。但抑制以后花序的发育,使小花的数目减少,不过也有相反的试验报告,需要进一步的研究。

花器的发育对于干旱也很敏感。作物对缺水减产最敏感的时期称为水分临界期,对于收获果实或种子的作物,水分临界期大多在花器的发育和开花期。例如,小麦对缺水的敏感在开花期 > 产量形成期 > 营养生长期,而且冬小麦对缺水不如春小麦敏感。玉米是开花期 > 籽粒充实期。大豆的临界期为产量形成及开花期,特别是在子实发育期。小麦等在开花前后各约 14 d 内遇到干旱使粒数减少,即使以后改善供水,产量仍然显著下降。玉米在散粉时短期干旱可导致大量减产。干旱的作用除使花原基的发生延迟或停止外,尚可使胚囊内卵细胞败育,花粉发育延迟或异常,花丝、花粒或花粉管的伸长受阻,以致不能传粉受精。玉米在胚囊形成期给予再次 10 d 以上的水分胁迫处理,结果雌穗中有 43% 的胚囊发育不正常,也常出现两性小穗,产生极少数的籽粒。给予 1 次 15 d 以上的胁迫处理,约 15% 的胚囊发育不正常,而对照穗中只有约 2.5% 的胚囊败育,产量减少不显著。在雌穗出现时温和水分胁迫(未出现萎蔫)和严重胁迫(萎蔫)对于雌花的发育、花粉生活力、穗丝伸长率等的影响,和对照相比,由开始抽丝到开始散粉的时间,平均分别增加 3 ~ 4 d,对花粉在体外的萌发没有影响。晴天时 1 天内穗丝的伸长大部在夜间进行,受旱植株在穗叶水势达到约 -9 bar 时,伸长停止;但对照植株在 -14 bar 时才停止,可见除水势外尚有其他作用在调节穗丝的伸长率。Robins 等用充分灌水的邻近植株的花粉给玉米萎蔫植株的柱头授粉,结果花粉粒不能正常萌发,花粉管伸长不能达到胚珠,以上有关缺水影响的机理还不了解。

干旱不仅影响开花、传粉、受精和结实,而且促进器官的脱落。棉花、大豆、豇豆等在水势达到 -15 ~ -17 bar 时可导致棉花大量的落蕾和落铃,大豆的落花落荚可达 40% ~ 80%,在成熟的荚中胚珠和种子的败育为 9% ~ 22%,其原因主要是水分不足时种子和器官之间的竞争和供给的短缺。

缺水对于植株器官衰老的影响作物的每一个细胞、器官和植株都经历着发生、发展、衰老和死亡的过程。这一过程受遗传的程序控制,但也受环境因素的干扰,促进或抑制。衰老指组织、器官内部接近死亡以前的一系列有害的变化或代谢活动迅速减退。叶子衰老的主要特征是 RNA 含量减少,蛋白质分解增强,叶绿素破坏,叶子发黄,ABA 迅速增加而细胞分裂素同时减少,乙烯大量产生,膜的透性增强等等导致加快死亡。水分胁迫可促进或提前这一过程。受水分胁迫的植株,较老的叶子首先萎蔫,具有较高的蛋白质分解活力,其分解产物可能运到幼叶中去。ABA 可以促进,而细胞分裂素可以延迟衰老。因此很可能衰老是由内源激素调节的程序控制过程,胁迫则是通过对内源激素的影响而促进衰老的。干旱严重时,老叶通常首先死亡,随着是幼叶,但常常靠保留一个活的分生组织而存活下来。缺水促进叶片早衰和死亡是影响产量的另一重要原因。

玉米植株在整个营养生长期间在较低的蒸汽压下度过时,以后在籽粒充实期间遇到缺水,比在高蒸汽压下生长的植株可减轻对衰老的促进作用。这显然是一种抗旱锻炼过程。

干旱促进植株的衰老和成熟,也可看成是植物适应水分胁迫的一种方式,因其可以减少一些对水分的需要和避免后期更严重的干旱,不过要以牺牲一部分生长和产量为代价,但是这种牺牲在比较严重的水分胁迫下还是不可避免的,而且常常是有益的。

有些耐严重干旱的植物,多数是低等植物,缺水并不促进其衰老,而是中止它们的生长、发育、降低代谢活动,进入类似休眠状态。一旦恢复供水,在很短时间内,大约 30 min 以内,即可恢

复正常的代谢活动,这是另一种方式的适应。

3.6 植物抗旱的机制

植物最早起源于海洋,其生存从不涉及缺水的问题,但随着植物从海洋向陆地繁衍的同时,就给植物带来了如何保证水分供应的问题,如此也就有了植物根茎叶的分化和植物输导组织的分化,推动了植物的进化。同时,由于不同地区的缺水程度、发生时期也不同,因而使得植物对干旱的适应能力的大小和方式也出现很大的差异。

植物抗旱性的种间和品种间的差异会很大,由接近完全脱水到只能浸没水中;由很短时间到延续百年以上(某些在特殊条件下保存的种子)。这样我们才有可能借助引种、选择、培育抗旱种类和品种来减轻和抵御干旱的危害。例如一种豇豆品种在非洲苏丹北部 1970 年的干旱年份,其他抗旱作物如高粱、御谷完全绝收时,还能收到一部分籽实。

3.6.1 植物抗旱的类型

植物适应干旱的方式是多种多样的,但其间没有严格的界限,而且许多植物具有综合的、几种方式共同作用的抗旱能力,很少可能只有单一的抗旱性能。Levitt 等(1966)将植物的抗旱性定义为在供水量很低的情况下,植物可以生存的能力。对于植物适应干旱方式的分类,学者们的意见并不一致。根据 Levitt 的观点,植物的抗旱性包括避旱性、御旱性与耐旱性。

(1) 避旱性

植物的**避旱性**(drought escape)是指植物借缩短生育期避开干旱,在较短的有雨期间迅速生长发育完成整个生活史的情况。植物的避旱能力可以以其生育期的长短表示。如最著名的是沙漠中的短命植物,当湿季来临时,迅速发芽、生长,开花结实,可以在 3 周内完成其生活史,而不受随后来临的干旱的影响。有些宿根草本植物,干旱到来不久,苗系即枯死,留下根系表面有一层不透水的外被,可以度过极其严酷的时期。

栽培作物也有类似的情况,播种后发芽、生长、开花与成熟能与当时的供水及蒸发条件相适应时,即可避开干旱。禾谷类中的御谷、糜子系著名的旱地作物,可在播后约 60 d 的期间成熟和收获。在山西曾推广一种叫"运辐早"的小麦品种,它比一般品种提早成熟半个月,因而可以避开灌浆后期的干热风,从而获得较高的产量。某些豇豆品种的收获期相差可达 21 d,有些棉花品种则可相差到 30 d 以上。许多豆科作物,在生长季节中发生干旱的情况下,对产量的影响相对地比较小,因为其花序是无限花序。许多作物如果当地早期缺雨,则对晚开花的品种有利,如果后期缺雨则对早开花品种有利。有些作物遇旱时可提早开花,缩短生育期,有些则可延迟开花。因此理想的适应机理是能够对降水和干旱做出反应,自动调节生育期,在缺雨时缩短,降水较充分时延长生育期。

栽培措施上如果提前播种常常能提早开花结实,这就要求作物能适应早期的低温,不受寒害,能在低温下萌发和生长发育,在这方面也存在改进的可能性。

控制发育和成熟的条件和机理,需要从适应干旱方面进行研究。短日照作物如高粱等决定开花的条件是一定时间的黑暗。抗旱作物的日中性品种,主要依靠温度调节开花与结实,可用热单位即积温来预测其成熟期。研究控制作物成熟期的生理机制及其遗传潜力,人工调节的可能

途径和方法,有着重大的理论和实践意义。

(2) 御旱性

植物的**御旱性**(drought avoidance)是指在干旱条件下,植物体内仍能保持一定的水分,使细胞处于正常的微环境中,各种生理过程仍保持正常状态,如根系发达、输导组织发达、根冠比高、气孔下陷、气孔关闭、蒸腾表面积减少、蒸腾降低、组织器官内贮水、体内产生代谢水等都具有防御植物脱水的作用。用一句话来说,植物通过"开源节流"保持植物体内的水分,保证在干旱生境下生存。这些都是植物通过形态学上的适应来达到的,当然形态学上的适应也不能与生理上的代谢截然分开。

植物在形态上的适应是由于植物长期生活在一定的生境下,在遗传变异的基础上,通过自然选择,把一些有利的性状保存下来,从而使植物更能适应它所处的生境。植物的形态适应往往受到遗传和环境因素共同作用的控制,不过有些对环境反应比另一些更为敏感。

形态适应可以分为短期的和长期的。短期的仅在一定条件下才出现,如叶子的卷曲、定向等;长期的则终生基本不变,如叶子的变态。形态适应的优点是比较稳定,在一个较长时期或一个大的环境范围内保持不变,而且效果比较显著。从人类对抗旱品种的筛选来看,形态指标容易鉴别、测定、比较和评价,目前仍然是选择抗旱品种的主要标准。

抗旱植物品种一般有下列形态特征:

细胞多为圆形　圆形细胞的体积与面积的比值最小,比值越小,细胞在吸水膨胀、失水收缩时所引起的形状变化越小,所受到的机械伤害也就越小。不耐旱的植物细胞的体积/面积比接近20,中度耐旱的细胞为5~10,而旱生藓类细胞可达1~2。

组织　叶片表面角质化和具有蜡质的表皮组织,对于控制失水具有非常显著的作用。通过角质层的失水称为角质蒸腾,虽然一般认为角质蒸腾比气孔蒸腾要小得多,对于成熟叶片90%的失水是通过气孔蒸腾的。但也有人认为角质蒸腾要比一般设想的要大,在幼嫩叶片它甚至占到了叶片蒸腾的1/3。而在干旱时气孔关闭的情况下,角质蒸腾所占的比例就会大大增加,对植物的抗旱性具有更重要的意义,沙冬青叶表面的角质层就比一般中生植物的角质层厚了两三倍。现有许多证据表明是角质层被蜡质浸润的程度而不是角质层的厚度是控制蒸腾的主要因素。除了角质,栅栏组织的分布对于抗旱性也具有一定意义,如刺蓬的叶四周都有栅栏组织,而沙米的叶上下则有两层栅栏组织。

肉质植物的贮水薄壁组织,可以贮存一部分水,当叶子逐渐干燥期间供给同化细胞使用。盐生草、油蒿、珍珠猪毛菜、白刺、骆驼蓬等有发达的贮水组织,可占叶片厚度的70%左右。有的旱生植物,同化茎的表皮细胞壁吸水时膨胀很快,但脱水时放出水分很慢。有些中生植物也可重复利用一部分贮藏水,例如,亚麻茎的下部较老的部分可以供给一些水给幼嫩的茎。有的肉质大型果实也可起贮水器官的作用,在急需时供给进行光合的叶子。显然这种方式可以减轻水胁迫的不利作用(赵可夫和王韶唐,1990)。

植物的输导组织效率可以用导管的数目、直径、导管横断面积对茎(或根)部横断面积的比值、叶脉的密度、根或茎的导水率来表示,它们对干旱的适应价值有相互对立的两方面作用。对于御旱的耗水型植物来说需要发展有效的输导组织,从而增加吸水以供给叶面强烈蒸腾的需要;但对节水型植物以及利用土壤储藏水分维持较高产量的作物(如小麦)来说,则需要较低的导水率,防止早期苗系过盛的生长,导致土壤水分的耗尽。从进化观点上来看,输导组织的产生,是植

物进化到高级阶段的一个飞跃,如果没有输导组织的分化,植物的从水生生境向陆地生境的延伸就要受到很大的限制,一些高大的植物就不可能出现,高等植物的产生和发展是不可能的。

器官　植物在根、茎、叶等器官水平上都具备有效的御旱能力。

根——根是主要的吸水器官,根的长度、密度、广度、分枝数、根毛、类型、透水性、导水率等都直接影响植物吸水。御旱中的耗水型植物主要依靠发展根系,开拓水源。许多抗旱作物如小麦的根,在陕西武功最大可达到2.8 m,高粱、苜蓿等也是依靠深根利用深层土壤的储存水。但是深根只是在土壤深层有储存水可利用的情况下才有适应价值,有一些土层浅的干旱地区,许多肉质植物发展了浅而广的根系,能迅速吸收利用小阵雨,它们的雨根能在雨后几小时内出现,土壤变干时即行消失,这类植物结合其他性状,也能抗严重的干旱(赵可夫和王韶唐,1990)。

根的密度指一定土壤容积中根的总长度,以根长的 cm/cm^3 土壤表示。根的吸水速率往往和根的密度成正比,因此密度大时,可延缓水分胁迫的发生。根的密度的种间差异十分显著,也与土壤环境状况密切相关,一般在土层中根的密度随时间而增加,直到植株停止营养生长时才开始减少。通常单子叶植物根的密度大于双子叶植物。

根的表面也像叶面一样有变性和透水的问题。根的根冠外层及外皮层开始形成区域的细胞壁栓化,即产生一层不透水的木栓细胞,可防止水向干燥的土层中渗出,可是这样也就限制了根的吸水。

如前面所述,根的导水率也具有双重的适应意义,对于御旱的耗水型植物要求较高的导水率,以适时地供应地上部强烈蒸腾的要求。而对于节水型植物则以低导水率根系为宜。

总之,根在抗旱中的作用有:①促进吸水—通过发展庞大和深的根系或浅而广布的根系尽量吸收可利用的水;②根皮加厚、硬化、栓化防止向干土中失水。根系小,分枝少,对水流的阻力大,可减少地上部的蒸腾,节约用水;③贮存水分(赵可夫和王韶唐,1990)。

茎——茎部粗细长短、肉质化程度、表面状况、输导组织占茎的比例,分枝及分蘖多少、茎的坚硬度等等指标都与植物的抗旱性有关。例如仙人掌、骆驼蓬和骆驼蒿的茎内具有发达有贮水组织,茎内薄壁细胞贮藏水分以度过严重干旱。耐旱的胡杨其茎的直径对植株水分状况响应非常灵敏,夜晚植株组织含水充足时,茎直径相对较大,白天植株失水,茎直径减小。

叶——叶子是进行光合作用和蒸腾作用的重要器官。叶子的形态和结构非常适合于执行这两项功能。通过改变叶子性状,减少蒸腾是植物适应干旱的最有效、最重要的方式。

减少蒸腾面积长期以来认为是减少蒸腾的重要途径。在干旱条件下,由于膨压下降而影响叶子的延伸生长,以致叶面积显著减少,降低了蒸腾;但这同时也会导致植株对辐射能接受的减少,降低群体光合,影响植物的生长。当植物的叶面积系数小于3时,蒸腾失水显著减少,这样就减少了消耗水分的速度,延迟严重胁迫的到来。植物还可以通过其他方式,减少蒸腾表面,例如叶子皱缩和卷曲,特别是禾本科植物,是最常见的一种对干旱的反应,可减少蒸腾约50% ~70%和增加用水效率。叶子的卷缩系由上表皮的泡状细胞(bulliform cell)失水所致,泡状细胞是一些具有薄垂周壁的大型细胞(薄壁细胞),其长轴与叶脉平行,在叶片上排列称若干纵列,恰分布于两个叶脉之间的上表皮中。每组泡状细胞的排列常似展开的折扇形,中间的细胞最大,两旁的较小。它们的细胞中都有大液泡,不含或少含叶绿体。当叶片蒸腾失水过多时,泡状细胞变得松弛,而能使叶子折叠或内卷,以减少蒸腾;当蒸腾减少时,它们又吸水膨胀,于是叶片又平展。叶片的卷缩程度可以用叶子的投影宽度对它的最大宽度的比值来表达,称为蜷缩指数(rolling

index)。例如一片叶子卷到两边边缘接触时可减少其有效叶面积约68%,因此蜷缩指数为0.32。叶子蜷缩对一日间水分亏缺的变化极敏感,因此可以迅速作出反应,减少接受一部分辐射能,而在蒸腾需要降低时能够及时恢复。

叶子的脱落是另一种有效的适应性反应。许多植物诸如番茄、大豆、向日葵等受旱时下部叶子脱落,降低蒸腾面积。虽然这种方式对于减少蒸腾更为有效,但由于是不可逆的,须付出牺牲部分光合作用的代价,因此对植物的产量的维持是不利的。

叶子的定向是指植物叶片随光照强度的变化而改变角度或位置的反应。干旱胁迫下叶子的定向一种是被动的萎蔫反应,如向日葵和棉花叶子失水时萎蔫垂直下垂,可以有效地减少光照面积。另一种定向是在水分胁迫下主动地改变叶片位置使之与光照的方向平行(避日性)从而降低对光的吸收,几种豆科植物表现有此种性状。还有的植物,例如一种钩柱豆和一种沙漠羽扇豆,在水分充足时,小叶位于和投射光成直角的方向,而且保持此种情况随太阳而移动,在严重的水胁迫下,则位于和辐射方向平行的位置,其机理包括位于小叶基部的叶枕依靠光的膨压变化,与气孔开关的情况相类似。许多旱生植物的叶子始终保持直立状态,也可避免中午的强烈辐射。

叶子的退化是沙漠生境的植物度过干旱的一种很好的方式,例如仙人掌、梭梭、柽柳、沙拐枣、麻黄和石刁柏等的叶退化为鳞片状、膜状或针刺状,这样可以减少表面积,防止过度蒸腾。而茎则变为绿色,代替叶行使光合作用。

植物叶片表面状况将直接影响水气的进出,沙枣的叶上铺满了鳞片,刺果藜的叶披上了长毛,白刺、霸王的叶上有厚厚的蜡被。沙蓬、小叶锦鸡儿和苦马豆的气孔下陷,这里都能降低蒸腾。气孔的分布和气孔的密度也与抗旱有关,禾本科植物的叶子两面都有气孔,但许多植物的叶子只有背面有气孔。关于气孔的密度,据 Miskin 报告,气孔密度低的大麦品系,蒸腾强度也较低。气孔密度低的高粱品系,在干旱地区与籽粒的产量相关。但另据 Gones(1977)的报告,低气孔密度的大麦的气孔传导与高气孔密度品系的相同,而每株的蒸腾则以前者大于后者。

(3) 耐旱性

植物的**耐旱性**(drought tolerance)是指植物在干旱条件下,能通过产生保护性物质降低对干旱的敏感性,或产生一系列生理生化变化使干旱解除后各种生理功能迅速恢复正常。例如,干旱生境下植物进行渗透调节以维持吸水和膨压,合成 ABA 促进气孔的关闭以维持植物内水分,促进抗氧化系统的活性以清除自由基等等。

3.6.2 植物耐旱的生理机制

(1) 气孔调节

气孔既是水分进出的通道,也是 CO_2 进出的通道,为了光合作用更加有效地进行,需要气孔尽可能地开放以进入更多的 CO_2,而为了防止水分过多地蒸发又需要气孔尽可能地关闭,因为在有利于蒸腾的条件下,气孔蒸腾占到植物总蒸腾量的80%甚至90%以上。因此为了增加水分的利用效率必须对气孔的开放和关闭进行有效的控制,使之不因其过度关闭而影响了光合作用,又不至于过度开放而引起失水过多而影响植物正常生理生化活动,以致组织受害,甚至死亡。

气孔调节即指适应环境胁迫情况的气孔反应的变化。也就是植物通过气孔的开关,控制气体扩散的速度,以解决植物受水分胁迫的问题。利用气孔开关调节蒸腾和光合是一个有效的方式:植物总是在最有利于 CO_2 快速同化时,使气孔张开;在最有利于 H_2O 快速散失时,气孔关闭,

这就是气孔的最优化行为。气孔的这种行为是为了保证在土壤可利用水分有限时,使植物的水分利用效率达到最大。防止植物受潜在的水分胁迫的伤害。气孔调节的优点是反应快速灵敏。在短期内是可逆的,相比之下,其他形态适应的可逆性要差得多。气孔调节的范围相当大,在环境条件变化时可由全天关闭到全天开放,部分关闭(或开放)到完全关闭。

气孔对水分胁迫的反应有前馈式反应和反馈式反应。Schulze 等(1986)在以色列 Negev 沙漠气候下生长的杏上最早发现了前馈式反应,此后相继在葡萄、苹果、草莓、桃、李、樱桃、巴旦杏、咖啡、荔枝等果树上发现该气孔反应。气孔的前馈式反应是指植物气孔对空气湿度的变化所表现的一种直接反应,是由水气压亏缺直接作用而引起的气孔关闭,可以主动阻止 ψ_w 进一步下降。现在人们认为前馈式反应对植物的保护作用相当重要,是防止水分散失的"第一线防御"。气孔的反馈式反应是指土壤干旱时植物 ψ_w 下降而引起的气孔关闭,即由 ABA 信号所介导的气孔关闭。它可减缓叶子失水,甚至在一定条件下有助于 ψ_w 的恢复。ψ_w 的恢复会进一步促进气孔的重新开放。

即使植物在相对稳定的环境条件下,气孔也会以数分钟或数十分钟为周期的节律开合的现象称为**气孔振荡**(stomatal oscillation)。干旱条件下,植物调节气孔孔径,限制水分过度散失,同时也阻碍了植物同化所需 CO_2 的供应。而气孔振荡不但能降低蒸腾,而且可使光合速率几乎不受影响。这是由于气孔有节律的开合,使气孔的平均导度下降,约为最大导度的 50% 左右,而在稳定条件下,气孔是以最大导度进行蒸腾作用的,所以气孔振荡可大幅度降低蒸腾速率。振荡时,气孔只呈现极短瞬间的关闭,这种瞬间的气孔关闭不会使光合细胞内的 CO_2 浓度降得过低,而且,当气孔孔径达到 2 μm 时 CO_2 同化已趋于最大。即当气孔很狭窄时,光合作用与气孔运动的关系才特别密切,所以气孔振荡对光合作用的影响不大。

但也有人认为气孔振荡是由外界因素引起的,其中主要是由于植物的水分系统被干扰。这些干扰因素有:光照强度、大气湿度、CO_2 浓度、根环境、温度的改变等等。气孔振荡的具体过程可能如下:当气孔因为某种原因张开后,气孔导度增加,蒸腾加速,叶片含水量降低。叶片脱水达到一定程度后,气孔关闭,蒸腾下降;叶片由于开放失水增加了根茎叶之间的水分扩散压力差,待气孔关闭后,叶片吸水仍在进行,最终使丧失的水分恢复或稍过量恢复,这时气孔重新开放,蒸腾又上升,最终导致根茎叶之间的扩散压力差,如此反复,就产生了气孔振荡现象。更确切一点说,气孔振荡是由于蒸腾与茎流量之间的时滞造成的。一旦土壤中含水丰富,或大气湿度适宜,这种时滞就很难出现或很小,因而不会出现气孔振荡或振荡不明显。

(2) 渗透调节

① 渗透调节的概念　水分胁迫时植物体内主动积累各种有机和无机物质来提高细胞液浓度,降低渗透势,提高细胞保水力,从而适应水分胁迫环境,这种由于提高细胞液浓度,降低渗透势而表现出的调节作用称为渗透调节。渗透调节常用的术语有 osmoregulation 和 osmotic adjustment 两种。Turner 和 Jones 指出,osmoregulation 或 turgor regulation 意为通过胞液中增加或减少溶质调节细胞渗透势以期与细胞外介质渗透势平衡。建议这两术语仅用于低等植物和微生物或高等植物对盐渍的反应,而术语 osmotic adjustment,特意指高等植物对水分亏缺反应时溶质的累积。

渗透调节是在细胞水平上进行,即由细胞通过合成和吸收积累对细胞无害的溶质来完成,其主要功能在于维持膨压,从而维持原有的生理过程,如由膨压直接控制的膜运输和细胞膜的电性质等。通过渗透调节可以完全地或部分地维持细胞膨压,对这些过程和机制的调节是有益的。如对光合器官的保护,在干旱条件下光合作用受到的影响除有气孔因素外,还有非气孔因素,即

气孔关闭后，外界 CO_2 不能进入叶片内部所造成的光合器官的光抑制作用，通过渗透调节能维持部分气孔开放和一定的光合作用强度，从而避免或减轻光合器官会受到的光抑制作用；渗透调节可保持细胞继续生长，在一定的水势范围内观察到根、下胚轴和叶子的生长是稳定的。渗透调节是植物抵抗逆境的一种重要机制。

② 渗透调节能力的判别　植物的**渗透调节能力**（osmotic adjustment capacity）同其他的生理过程一样会受到植物体内外不同的单因素或复合因素的影响，不同物种或品种植物，或植物不同部位的渗透调节能力也有很大差别，因而，在研究植物的渗透调节作用时判别植物有无渗透调节能力或能力的大小是十分重要的。

植物的渗透调节作用主要表现在渗透胁迫情况下细胞膨压的全部或部分维持。众所周知，$\psi_p = \psi_w - \psi_s$ 式中 ψ_p 为压力势或膨压，ψ_w 为水势，ψ_s 为溶质势或渗透势。当细胞水势下降时，只有 ψ_s 也作相应地下降，才能保证 ψ_p 保持不变。如前所述，只有细胞维持一定的膨压植物才能进行相应的生命活动。因而当人们以植物水势为横坐标，膨压为纵坐标作图时，其相关直线斜率越小，即 $\Delta\psi_p/\Delta\psi_w$ 值越小，渗透调节能力越大（图 3－16）。

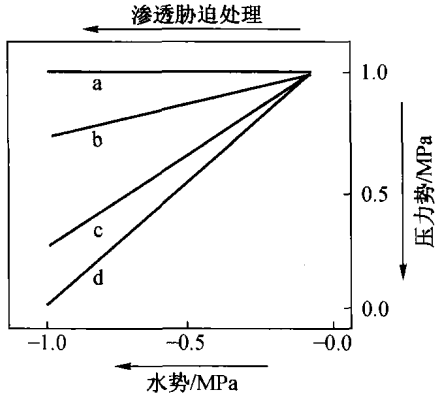


图 3－16　膨压和水势之间的关系图

a. 膨压完全维持；b. 膨压部分维持；c. 失去膨压维持；d. 植物组织内恒定的渗透势。（改自汤章城，1998）

植物细胞内的渗透势的下降可以是由于细胞失水而造成的体积减小以及溶质浓缩，也可以是细胞内溶质的净增加，后者才是一种主动的渗透调节过程。因而当用植物材料的相对含水量的对数为横坐标，以渗透势的对数为纵坐标作图，其相关的直线是否有折点，或折点所示的渗透势分别表示了有无渗透调节能力或能力的大小（图 3－17）。

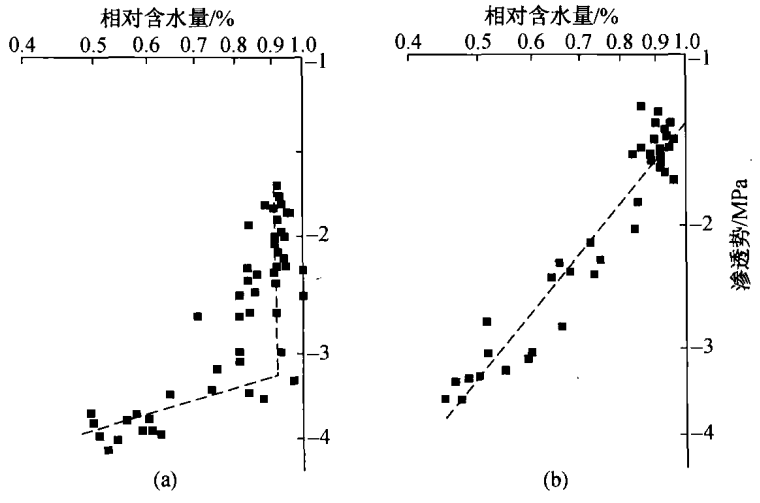


图 3－17　两种小麦叶片含水量和渗透势的对数图

（a）*Trisicum spelta*；（b）*T. durum*。（引自汤章城，1998）

③ 渗透调节能力的计算　关于渗透调节能力的计算参考 2.6.4。

④ 植物体内的渗透物质　渗透胁迫条件下参与渗透调节的物质基本上分为两大类：一是外界环境进入植物细胞内的无机离子，如微生物和盐生植物中的钾离子和氯离子，高等淡土植物中的有机酸钾盐；二是在细胞内合成的有机溶质，作为有机渗调物质都应该具备以下特点：(1)相对分子质量小，不超过 1 000，如脯氨酸 115，甜菜碱 117，可溶性糖 150 ~ 720，游离氨基酸 75 ~ 144，多元醇 135 ~ 1 000。根据 Van't Hoff 公式，$\psi_s = -CiRT$，渗透势只与溶质颗粒的浓度有关而与相对分子质量大小无关，因此相对分子质量小的有机物合成时需要较少的能量；(2)易溶于水，全部含有亲水基团；(3)在生理 pH 范围内呈电中性，因此不会干扰细胞的电荷平衡；(4)能与其他物质兼容(compartable)，不会影响物质的代谢；(5)本身不改变酶结构，且能维持酶结构的稳定；(6)合成酶系统对胁迫反应敏感，且能在很短时间内积累到足以降低细胞渗透势的水平。目前知道的渗调物质大致可以分成四类：即氨基酸(如甘氨酸甜菜碱、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、7 - 氨基丁酸、苏氨酸等)、多元醇(如山梨糖醇、甘油、蔗糖、甘露醇、赤藓糖苷、异赤藓糖苷、蒜立醇等)、季胺类化合物(如甘氨酸甜菜碱、丙氨酸甜菜碱、脯氨酸甜菜碱)和小分子渗调蛋白。

脯氨酸是植物蛋白质组成成分之一，以游离状态广泛存在于植物体内。脯氨酸对细胞的渗透调节起重要作用，是植物体的防脱水剂。在水分胁迫条件下，植物体内游离脯氨酸含量增加。脯氨酸含量的增加与植株水势下降呈负相关，植物体内脯氨酸含量在一定程度上反映了植物体内的水分情况，因而可以作为检验植物缺水情况的参考性生理指标。

研究表明许多植物在水分胁迫下会积累大量的脯氨酸进行渗透调节，但不同植物品种之间脯氨酸的积累存在差异。Knipp 等(2006)研究水分胁迫对几个经过基因改良并能够产生果聚糖的马铃薯品种叶片中脯氨酸积累的影响，结果显示，水分亏缺下所有马铃薯品种叶片中脯氨酸的含量都增加，但是不同品种之间差异明显，其中果聚糖分子聚合强度越高的转基因马铃薯品种在水分亏缺下，脯氨酸的含量越低。相关研究还有很多，例如对高粱的不同品种(Zaifnejad 等，1997；Alkaraki 等，1996)，大豆的不同品种(Alkaraki 等，1996)，玉米的不同品种(Carceller 等，1999)，豇豆的不同品种(Chiulele 等，2004)，沙棘的不同品种(刘瑞香等，2005)等，他们在水分胁迫下脯氨酸的积累因品种不同而存在差异。

甜菜碱是高等植物中最主要的代谢积累产物之一，植物中的甜菜碱主要有 12 种，其中甘氨酸甜菜碱(glycine betaine)是最简单也是最早发现、研究最多的一种，丙氨酸甜菜碱(alanine betaine)和脯氨酸甜菜碱(proline betaine)也是比较重要的甜菜碱。由于甜菜碱的生物合成途径比较简单，因此被认为是最有希望外源应用的植物调节剂之一。如马双艳等(2003)以桃(*Prunus persica*)、草莓(*Fragaria ananassa*)、板栗(*Castanea mollissim*)和平邑甜茶(*Malus hupehensis*)4 个树种为试材，对水分胁迫下其叶片、茎及根中甜菜碱含量的变化进行了初步探讨，结果表明：水分胁迫下，各树种的甜菜碱含量都显著增加，但不同树种变化幅度不一。Nayyar 和 Walia(2004)的研究表明，小麦在水分胁迫下叶片会积累甜菜碱，且含量的多少因品种而异。Reddy 等(2004)研究 5 个桑树(*Morus alba*)栽培品种，也认为不同品种干旱胁迫下的甜菜碱含量存在差异，表现出不同的干旱适应性。

氨基酸是一类带有氨基(－NH_2)或亚氨基(－NH)的有机酸的总称，是细胞的重要组成部分，在植物生命活动中担负着重要作用。近年来，在研究氨基酸的积累与水分胁迫的关系方面取得了一些进展。Ashraf 等(2005)研究菜豆(*Phaseolus vulgaris*)和刺田菁(*Sesbania aculeate*)后发

现,干旱胁迫下两种植物所有部位的游离氨基酸含量都有增加,菜豆的叶和节结部位游离氨基酸的含量比刺田菁高。在氨基酸中脯氨酸(proline)是最重要和有效的有机渗透调节物质。几乎所有的逆境,如干旱、低温、高温、冰冻、盐渍、低 pH、营养不良、病害、大气污染等都会造成植物体内脯氨酸的累积,尤其干旱胁迫时脯氨酸累积量最大,可比原始含量高几十倍甚至几百倍。

在水分胁迫下,植物体多元醇的含量也有所增加。Williamson 等(2002)认为多元醇类物质是一种多功能的植物保护剂,它在植物的糖代谢、盐胁迫和抵抗病菌方面起非常重要的作用。Merchant 等(2005)发现桉树(*Eucalyptus spathulata*)中环多醇在细胞质中积累可以适应盐胁迫和水分胁迫。Clark 等(2003)研究西红柿在高渗的环境下生长过程中多元醇所起的作用,结果发现由西红柿的真菌病原体产生并在植物体内大量积累开链式的多元醇类物质,但是起渗透调节作用的不是甘露醇,而是阿拉伯醇和甘油。

目前国外较为关注的多元醇类物质是松醇类物质,对逆境中松醇积累的研究也较多。松醇是环状多元醇类物质之一,最早是 Ford(1984)在干旱胁迫下豆类植物中发现,随后研究的对象也从豆类植物扩大到非豆类植物(Wanek 等,1997;Sun 等,1999;McManus 等,2000;Streeter 等,2001)。与脯氨酸、甜菜碱和可溶性糖类物质相比,松醇突出的特点是含量差异大和代谢缓慢,这种代谢缓慢与其作为渗透调节物质的功能是相适应的。对干旱胁迫的研究表明,胁迫情况下植物细胞质中糖类化合物的含量会上升,但如果解除水分胁迫,则糖类化合物浓度的下降速度会大大高于环多醇类物质(Keller 等,1993)。

(3) 抗氧化系统

如前而所述,抗氧化酶体系清除活性氧的活力是决定细胞、组织、器官乃至植物对胁迫抗性的关键因素。植物体内主要抗氧化酶类包括超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)、谷胱甘肽还原酶(GR)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)等。在活性氧清除体系中超氧化物歧化酶(SOD)常与过氧化物酶(POD)或过氧化氢酶(CAT)协同作用。其中超氧化物歧化酶 SOD 是植物氧化代谢的关键酶,它可以催化植物体内的超氧物阴离子自由基 O_2^- 歧化生成 H_2O_2 和 O_2,从而可能在保护系统中处于核心地位。SOD 是植物抗逆生理中研究最多的一种酶,在与抗氧化胁迫的关系上研究较为深入。一般来说,水分胁迫下植物体内的 SOD 活性与植物抗氧化能力呈正相关。轻度或短期水分胁迫下植物 SOD 活性呈上升趋势,而在严重或长期胁迫条件下出现下降趋势。SOD 是一种金属蛋白酶,根据其金属辅基不同可分为三种类型即 Mn - SOD、Cu - SOD、Zn - SOD、Fe - SOD 同工酶。不良环境的影响常引起基因的变异而导致该酶结构及活性的改变,这种改变反映在同工酶的酶谱上出现数量及迁移率不同的谱带产生。张峰等研究了水分胁迫及复水过程中小麦抗氧化酶的变化,发现水分胁迫期间,所有 SOD 同工酶都增强。Hatem Zgallai 等报道水分胁迫下,番茄叶片 SOD 活性显著增加,指出 SOD 可作为植物水分胁迫的评价指标。魏炜等研究表明,耐旱小麦品种经过轻度干旱胁迫、中度干旱胁迫以及重度干旱胁迫后其 SOD 的活力分别为对照的 3.5、4.2 和 2.8 倍。李丽霞等研究了不同程度干旱胁迫下沙棘过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化,结果显示,长期轻度及中度干旱胁迫下 SOD 活性能高于正常水平,POD 活性在轻度干旱胁迫时大幅上升,重度干旱下二者均能在胁迫初期缓慢上升。POD、SOD 和 CAT 这三种酶在逆境条件下能维持较高水平,协同清除体内积累的活性氧。一般情况下三者的协同程度反映植物抗氧化的强弱。一些植物在渗透胁迫下三者并不是按同一方向变化,推测胁迫条

件下酶活性还可能与酶蛋白的变性及生物合成等因素有关。一些如 Ca^{2+}、H_2O_2、稀土、ABA 等物质能有效地保护这些酶活性或提高酶之间的协同作用,有利于植株提高抗旱能力。

除抗氧化酶类在干旱胁迫下会发生变化外,植物体内的抗氧化剂如 GSH、ASA、VitE、类黄酮等也发生相应的变化(参考 1.3.2)。

(4) 内源激素的调节

内源激素是植物生命活动的调节者,植物在遭受逆境时,激素对其生理作用有重要的调节作用。植物通过内源激素的变化,如 IAA 和 CTK 浓度的减少及 ABA 浓度的升高来调节某些生理过程以达到适应干旱的效果。随着水分胁迫时间的延长,玉米幼苗生长素浓度变化不显著,CTK 含量逐渐降低,GA 和乙烯含量先上升后下降,ABA 和多胺含量逐渐升高。目前,研究较多的内源激素是 ABA,当土壤干旱时,植物能在根系中形成大量 ABA,使木质部汁液中 ABA 浓度成倍增加,引起气孔开度减少,实现植物水分利用最优化控制,脱落酸与植物抗逆机制有密切关系。因此受到植物生理学家的重视。脱落酸对气孔的调节作用是通过 K^+ 的运动而快速实现的。在小麦、玉米等作物中,干旱条件下,叶片的 ABA 含量能增加数十倍,而且抗旱性品种比不抗旱品种积累更多的 ABA,在干旱胁迫时,对 ABA 不敏感的基因型可作为小麦抗旱性鉴定的指标。

近年来人们逐渐认识到多胺在逆境中是一类新的植物激素。多胺是生物体代谢过程中产生的具有生物活性的低分子量脂肪族含氮碱,主要参与 DNA、RNA 和蛋白质的合成调节等过程。也参与细胞质膜稳定性和酶活性的调节,水分胁迫下,玉米幼苗中多胺趋于积累,根中多胺变化和叶片中有同有异。在水分胁迫下,经多胺处理的玉米叶片细胞质的丙二醛含量和叶组织的相对电导率明显降低,而且多胺处理可以延缓水分胁迫引起的玉米叶片叶绿素含量的下降,说明多胺确有抑制蛋白酶和阻止叶绿素的破坏,减轻或抵御自由基的伤害,增强玉米抗旱性的良好效果。

(5) 光保护

当植物光合机构所接受的光能超过光合作用所能利用的数量时,植物光能转化效率下降,主要表现为 PSⅡ光化学效率和光合效率的降低,这称为光抑制。强光是导致光抑制发生的直接因素,其他的叠加胁迫条件如干旱、盐渍、营养亏缺、高温、低温等则可通过减少植物对光能的利用、降低植物光饱和点而加剧光抑制。光抑制有时只是反映为一些保护机制的运转,即以光能转化效率的降低来避免反应中心的过度破坏和光合能力的损失(动态光抑制),但严重时抑制与 PSⅡ反应中心 D1 蛋白的净损失有关,此时即发生静态光抑制即光破坏。

在干旱胁迫下,很多因素可导致植物对光能的利用下降而产生光抑制,如 RuBP 羧化加氧酶(Rubisco)活性的下降、RuBP 再生能力的下降以及 Pi 再生能力的下降等。这会导致植物光化学效率的下降和表观量子化率的下降。严重时 PSⅡ反应中心受到了破坏,$P680^+$ 可与 $Pheo^-$ 发生电荷重组并产生 $^1O_2$,$^1O_2$ 使 PSⅡ反应中心 D1/D2/Cyt b_{559} 复合物的 His 残基及 Pheo 破坏,进而导致 D1 蛋白的损失。

为防御光破坏的发生,植物在长期的进化过程中形成了多种保护机制:

① 干旱、强光下叶片变小、变厚、天线色素含量降低以及叶片轻度萎蔫等都可减少叶片的光能吸收,叶运动和叶绿体运动对强光的快速响应也可有效减少叶片对光的吸收,从而避免光抑制,后来的研究发现,叶绿体的运动是由蓝光受体 - 向光素(phototropins)所介导的。

② 增强对光能的利用,光能过剩时,叶片可通过增加光合电子传递载体和光合关键酶的含量及活化水平来提高光合能力,增加对光能的利用(沈允钢等,1998)。在这一点上,光呼吸的保

护作用越来越受到人们的关注。

光呼吸是指植物绿色部分在光下吸收 O_2，释放 CO_2 的过程，其光呼吸消耗可占总光合产物的 20% ~50%。由于光呼吸将光合作用刚刚固定的碳素又重新消耗掉，长期以来曾被认为是限制光合速率及作物产量提高的主要因素。光呼吸作为一种重要的光保护机制，是 Osmond 等(1972)首次提出的，光呼吸可阻止 PSⅡ及 PSⅠ间电子载体 Q_A 的过度还原，维持电子传递系统的氧化还原平衡和围绕 PSⅠ的循环电子传递，与假环式电子传递一起，通过维系跨类囊体膜的质子梯度来保证 PSⅡ天线热耗散机制的有效运行(Katona，1992)。此外，光呼吸还可向光反应提供电子受体 $NADP^+$，并为暗反应快速提供 Pi，从而促进光能利用，减少自由基的产生。Ehleringer 等(1977)发现在强光抑制光合的情况下，光呼吸还在消耗着相当的同化力。管雪强等(2004)发现赤霞珠葡萄在干旱胁迫下能够有效调动其光保护机制以避免严重光抑制的发生，而异烟肼抑制光呼吸后，光抑制程度则明显加重，从而证明干旱胁迫下光呼吸对赤霞珠葡萄的光保护机制起重要作用。林莺等(2006)也在海滨锦葵上发现了光呼吸对其盐胁迫下的保护作用。

③ 两个光系统间激发能的分配。当 PSⅡ吸收光能过多时，可通过 LHCⅡ的磷酸化将部分激发能传递给 PSⅠ，从而增加光能利用率，降低光抑制发生的可能，这称为状态过渡。实验证明，在干旱条件下，PSⅡ激发态比例较高，过多的激发能倾向于通过状态 2 向 PSⅠ转移，用于光化学反应，提高光能利用率，减轻 PSⅡ的负担，从而降低光抑制发生的可能，状态转换造成的荧光非光化学猝灭(qT)可占到总非光化学猝灭(NPQ)的 30%。

④ 依赖**叶黄素循环**(xanthophylls cycle)的非辐射能量耗散。叶黄素循环是指光合膜上三种色素组分—紫黄质(voilaxanthin，V)、花药黄质(antheraxanthin，A)和玉米黄质(zeaxanthin，Z)之间依据吸收的激发能过剩程度而进行的相互转化，当激发能过剩时，含双氧的紫黄质会在脱环氧化酶(violaxanthin de-epoxidase，VDE)的作用下，经中间产物含单环氧的花药黄质，转化成去环氧的玉米黄质，玉米黄质可以猝灭三线态叶绿素。而当不再含有过剩的激发能时，玉米黄质及花药黄质会在环氧化酶(zeaxanthin epoxidase，ZE)的作用下，形成紫黄质(图 3-18)。

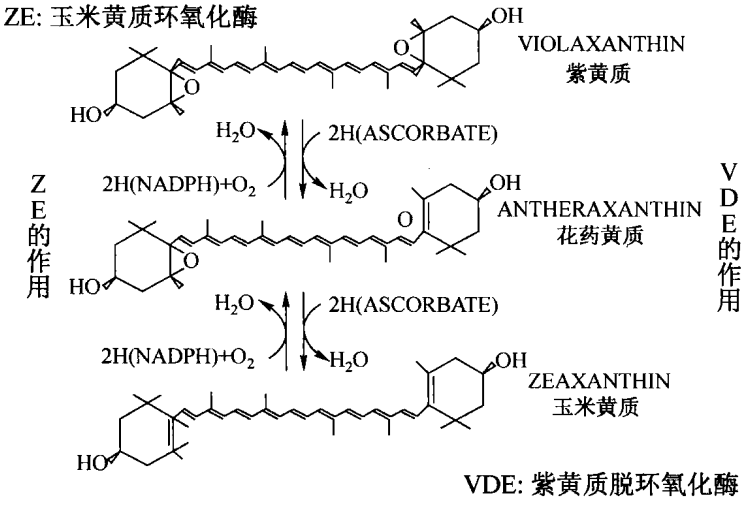


图 3-18 叶黄素循环

大量的研究发现，玉米黄质参与非辐射能量耗散可能的机制有二，一是直接猝灭机制（Chow，1994），即 Z（或 A）与激发态叶绿素之间进行能量传递，将激发态叶绿素猝灭掉，Chla 吸收的过量激发能最终通过 Z 或 A 直接以热的形式耗散出体外。跨类囊体膜的 ΔpH 主要诱导 Chla 同 Z 或 A 构象变化并相互靠近，以保证能量的正常传递。二是间接猝灭机制（Gruszecki 和 Strzalka，1991），即玉米黄质并不直接耗散过剩光能，其含量增加只是促进了 LHCⅡ形成有利于热耗散的构象，能量由 LHCⅡ最终耗散；Horton 等（1994）还提出了 LHCⅡ聚集态理论，这一理论认为光合机构从弱光转到强光下时，跨类囊体的 ΔpH 升高，类囊体腔内 H^+ 增多，结果导致 LHCⅡ蛋白的羰基化和 V 向 A 和 Z 转化，促使二者形成各自的聚集态，它们进一步相互靠近而发生荧光的非化学猝灭（Horton 等，1996；Gilmore，1997；Müller 等，2001）。

⑤ 围绕 PSⅡ的循环电子传递。围绕 PSⅡ的循环电子传递是指 P680→PQ→Cytb559—$Chlz^-$→P680。通过这一无效的循环可把激发能转变成热散失。

⑥ PSⅡ反应中心的可逆失活。即便是在低光强下的正常光合作用过程中，PSⅡ的 D1 蛋白也是处于不断合成和失活的动态平衡中，不会发生 PSⅡ功能的净损失。Krause（1988）提出失活的 PSⅡ反应中心可将激发能以热的形式耗散掉，从而防止对集光色素复合物的伤害，Oquist 和 Chow（1992）则设想，失活的 PSⅡ反应中心可以作为替代的电子汇点，以保护相邻相接的 PSⅡ反应中心免遭光破坏。

⑦ 加强 Mehler 反应与之相联系的活性氧清除系统的保护作用。如前所述，干旱胁迫加剧光能过剩，导致 O_2^- 的产生，植物可以通过加强过氧化氢酶（CAT）、超氧化物歧化酶（SOD）、抗坏血酸－过氧化物酶（APX）等活性氧清除酶以及谷胱甘肽、抗坏血酸、类胡萝卜素和 α－生育酚等抗氧化剂以清除活性氧，降低伤害，这是光保护的最后一道防线。

（6）代谢途径的改变

众所周知，C_3 途径是白天开放气孔进行 CO_2 的吸收和固定，夜晚关闭气孔，这样不利于在干旱条件下保持水分；而景天酸代谢途径（CAM 途径）是夜间开放气孔进行 CO_2 的吸收和固定，白天关闭气孔减少蒸腾失水。这方面研究较多的是冰叶日中花（*Mesembryanthemum crystallinum.*），它在干旱和高温胁迫时，CAM 途径的关键酶，磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶（PEPCase）和磷酸丙酮酸水合酶等能高水平表达，并促使其光合作用的 C_3 途径转变为 CAM 途径，这样可以适应长期的干旱。这种类型的植物称为兼性 CAM 植物，如长叶景天（*Sedum spectabile*）与部分带木属（*Clusia*）植物也是兼性 CAM 植物。

3.7 植物抗旱的基因工程

鉴于人们对植物对于干旱信号的应答以及所采取的耐旱措施研究的日益深入，目前人们希望利用生物工程途径来培育作物，为培育高效耐旱植物开辟新的途径。目前利用基因工程技术培育抗旱品种主要有下面四种策略：①基于细胞信号转导和基因调控的抗旱基因工程，调控植物在干旱下的信号传递与基因表达；②渗透保护物质积累的基因工程，增加干旱胁迫下的渗透调节物质的积累；③增强植物对活性氧自由基的清除能力的基因工程，使植物在水分胁迫下过度表达一些酶（如 SOD，POD，CAT 等），以有效地排除有害的活性氧自由基。④基于改变细胞膜脂组分的基因工程。下面分述如下：

3.7.1 基于细胞信号转导和基因调控的抗旱基因工程

目前,植物在各种逆境条件下的调控网络已经得到了广泛的研究。在拟南芥中已经发现了许多干旱应答基因,基本可以分为干旱应答基因 *rd*(responsive to dehydration gene)和早期干旱应答基因 *erd*(early response to dehydration gene)两类。植物在水分胁迫下,基因表达水平上的应答至少包括四条途径,其中两条不依赖于 ABA,另外两条依赖于 ABA。

在 ABA 缺陷型(*aba*)和 ABA 非敏感型(*abi*)拟南芥突变株中,一些基因也能够由干旱、高盐和低温诱导表达,表明这些基因在低温或干旱诱导下的表达并不需要 ABA 的参与,但却能够应答外源 ABA 的作用。这类基因包括 *rd29A*(*lti78*,*cor78*),*kin1*,*cor6.6*(*kin2*)及 *cor47*(*rd17*),而在这些基因的上游启动子区,都存在一个干旱应答顺式作用元件 DRE/CRT,这个顺式作用元件不但与植物的干旱应答有关,而且与低温和高盐应答基因的表达密切相关。在拟南芥中过量表达 DRE/CRT 结合蛋白 DREB1/CBF,使转基因拟南芥植株内 40 多个逆境诱导基因的表达发生了变化,从而导致了转基因植株对干旱、高盐、低温的耐受性。DRE 元件的发现是近年来植物抗逆研究方面最具突破性的进展。刘强等从拟南芥中分离到 5 个 *AP2/EREBP* 类转录因子基因,其编码的蛋白分属两个亚家族,分别命名为 *DREB* 1*A*、*DREB* 1*B*、*DREB* 1*C* 和 *DREB* 2*A*、*DREB*2*B*,与 Stockinger 等分离到的 *CBF*(C-repeat/DRE-binding factor)家族有对应关系,*DREB*1*A* 即是 *CBF*3,*DREB* 1*B* 即是 *CBF*1,*DREB* 1*C* 即是 *CBF*2。深入研究了与 DRE 相结合的蛋白质 DREB 发现,DREB1 在冷害诱导的基因表达中发挥作用。而 DREB2 则在高盐、干旱胁迫的基因表达中发挥作用。

在干旱胁迫条件下依赖 ABA 的基因表达有两种途径:途径Ⅰ是 ABA 通过一种具有亮氨酸拉链结构域的调节蛋白 AREB 和 ABA 结合因子 ABF 与具有 ACGT 或 G 盒的 ABA 保守顺式作用元件 ABRE 特异结合,引起抗旱功能基因的表达(*rd29B*/*lti65*)。RD29B 启动子包含保守的 ABA 应答元件 ABRE(abscisic acid responsive elements)在 RD29B 基因脱水胁迫下的表达中起顺式作用元件作用,ABRE 与带有基础亮氨酸拉链结构域的蛋白结合,也被认为是一种生长素结合因子(auxin binding factor,ABF)。为了限定 ABRE 的功能,需要 1 个耦联元件(coupling element)在 HVA22 基因的调节中组成 ABA 反应复合物(ABA-responsive complex)。途径Ⅱ是 ABA 通过逆境诱导合成的蛋白转录因子 MYC/MYB 和顺式作用元件 MYBR、MYCR 特异结合,从而引起相应的抗旱功能基因的表达。干旱诱导的拟南芥基因 *rd22* 的表达可被 ABA 调节,但是这种依赖 ABA 的表达需要蛋白质的生物合成。近来,渗透胁迫诱导 CBF4/DREB1D 基因已被鉴定,且被 ABA 诱导表达,表明 CBF4/DREB1D 的表达可能依赖于 ABA 的积累缓慢响应干旱胁迫。

3.7.2 渗透保护物质积累的基因工程

脯氨酸的积累在植物遭受渗透胁迫时能够起到很好的保护作用,除提供渗透调节的外,脯氨酸还能稳定膜的结构和保护细胞内酶的结构,减少胞内蛋白质的降解等。脯氨酸的生物合成途径有两条途径,即谷氨酸和鸟氨酸途径,在干旱胁迫诱导时,谷氨酸途径是合成脯氨酸的主要途径。

催化谷氨酸转变为鸟氨酸的主要酶有 P5CS(Δ1-pyrroline-5-carboxylate synthetase),P5CR(Δ1-pyrroline-5-carboxylate reductase),其中 P5CS 是限速酶,它催化裂解谷氨酸盐转变为 Δ1-pyrroline-5-carboxylate。因而在过量表达脯氨酸以提高植物耐性的基因工程中 *P5CS* 基因作为首选对

象。*P5CS* 的过量表达可以提高植物的耐旱性。这在烟草、在矮牵牛、大豆、拟南芥中都得到证实。

甜菜碱是作为植物的主要渗透调节物质之一而对植物的抗旱性起作用。干旱胁迫可诱导甜菜碱的积累,甜菜碱的积累能够保持细胞与外界环境的渗透平衡并且稳定复合蛋白质四级结构,从而提高植物对干旱胁迫的适应性。甜菜碱生物合成的前体为乙酰胆碱,高等植物中乙酰胆碱由胆碱单加氧酶(CMO)或胆碱脱氢酶(CDH)和甜菜碱醛脱氢酶(BADH)两步催化合成甜菜碱。由于甜菜碱的合成过程较简单,不涉及复杂的发育和结构层次,被认为是基因工程抗旱良好的调控途径。至今,已有不少植物被成功导人 BADH 和其他与甜菜碱合成相关的基因,并分别不同程度地使这些植物的抗旱性得到提高,如烟草、拟南芥、水稻、小麦等。但从已转化的甜菜碱基因工程植株来看,尽管它们体内都检测到甜菜碱的积累并具有显著的保护作用,但甜菜碱的含量比起许多能够自身合成并积累甜菜碱的物种要低 10 ~ 100 倍,分析可能是胆碱这一原料的供应不足限制了转基因植株中甜菜碱的含量。

甘露醇是一种存在于许多藻类和高等植物中的主要的光合作用产物,主要通过渗透调节来增强水分缺失的耐受性。将甘露醇脱氢酶(*mtlD*)基因导入小麦有效地增强了小麦的水分胁迫耐受性。但是在转 *mtlD* 基因的小麦和对照小麦之间,无论从细胞水平还是整体水平来看,都没有明显的渗透调节差别,说明甘露醇的有利作用不是来自于渗透调节而是来自于保护机制。这些机制可能存在于羟基(·OH)的清除,或者是高分子物质的稳定。在烟草中,甘露醇起到保护硫氧还蛋白,铁氧还原蛋白,谷胱甘肽以及硫醇调控酶,磷酸核酮糖激酶免受羟基化的作用。

海藻糖是一种还原性双糖,一般存在于低等生物中,它的化学结构和广泛存在于维管植物中的蔗糖的化学结构很相似,它分布在许多不同的生物体中,作为一种储备碳水化合物和胁迫保护物质稳定蛋白和膜的结构,保护其免于变性。酵母中,海藻糖受海藻糖磷酸盐合成酶(TPS)和海藻糖 - 6 - 磷酸盐 - 磷酸酯酶(TPP)催化,由 UDP - 葡萄糖和葡萄糖 - 6 - 磷酸盐通过两步反应合成得到。在拟南芥中已经发现了由 11 个 TPS 基因家族组成的家族,包括 TPP 和 TPPs 亚家族。在拟南芥的发育过程中,AtTPS1 酶在糖和 ABA 信号转导中发挥了重要的作用,通过这些信号转导过程,过量表达 At - TPS1 能够提高耐旱性。

3.7.3 增强植物对活性氧自由基的清除能力的基因工程

基于活性氧自由基清除系统在植物抗旱中的作用,近年来围绕着增强 SOD、POD、CAT 等的活性进行了大量基因工程方面的尝试。如 Mckersie 等将烟草中的 Mn - SOD 的 cDNA 导入苜蓿后,发现转基因苜蓿的抗旱性明显提高,并证明转基因苜蓿中 Mn - SOD 的表达能通过调控叶绿素荧光、电解质渗漏和茎尖再生来减弱水分亏缺的伤害,从而增强了苜蓿的抗旱性。Van Breusegem 等(1999)利用基因枪轰击产生的转基因玉米植株过表达烟草的 Mn - SOD 的研究表明,叶绿体内 Mn - SOD 的过量表达促进了叶片的抗氧化水平。Miyagawa 利用转基因技术将分解活性氧能力很强的大肠杆菌过氧化氢酶转入烟草叶绿体中获得转基因植株。实验表明,这些转基因植株在接近沙漠阳光的强光照射下,5 d 后叶片仍不枯黄,而普通烟草 2 d 后叶片变为枯黄。

3.7.4 基于改变细胞膜脂组分的基因工程

如前者所述,膜脂中的组分如 MGDG、DGDG、PG 等与膜的流动性密切相关,不饱和脂肪酸如油酸、亚油酸、亚麻酸的含量与膜的相变温度有关,因此改变膜脂中不饱和脂肪酸的含量对于提

高植物的抗旱性有一定意义。植物体内存在一些降低膜脂脂肪酸饱和程度的酶，如甘油 -3- 磷酸酰基转移酶，ω-3 脂肪酸去饱和酶等。ω-3 脂肪酸去饱和酶是不饱和脂肪酸合成途径中的关键酶，它催化亚油酸(18:2)形成亚麻酸(18:3)，改变膜脂不饱和脂肪酸含量，从而增加膜的流动性。黄霄等(2008)发现转 ω-3 脂肪酸去饱和酶番茄的类囊体膜脂不饱和度增加，转基因番茄在干旱胁迫下 PSⅡ最大光化学效率(*Fv/Fm*)和光合速率(P_n)的下降程度较小，抗旱性增加。甘油 -3- 磷酸酰基转移酶是 PG 生物合成过程中的第一个酰基脂化酶，它将脂肪酰转移到 3- 磷酸甘油的 C-1 位上合成 1- 酰基 -Sn- 甘油 -3- 磷酸(溶血磷脂酸)。Murata 等通过向烟草导入拟南芥叶绿体的甘油 -3- 磷酸乙酰转移酶基因，以调节叶绿体膜脂的不饱和度，使获得的转基因烟草抗寒性增强，但该基因与植物抗旱性的关系尚未得到证实。综上所述，目前利用基因工程技术提高植物抗旱性所涉及的基因、可能功能及其作用机制列于表 3-3。

表 3-3 提高植物抗旱性能的基因工程(引自 Cattivelli 等，2008)

基因	功能	作用机制	参考文献(见原文)
DREBs/CBFs;ABF3	胁迫诱导转录因子	其下游逆境相关基因表达的增强会增加植物对干旱、寒冷和盐害的抗性，植物生长延缓	Oh *et al.* (2005), Ito *et al.* (2006)
SNAC1	胁迫诱导转录因子	其表达会降低水分的损耗，增加气孔对 ABA 的敏感性	Hu *et al.* (2006)
OsCDPK7	胁迫诱导 Ca^{2+} 依赖性蛋白激酶	增强胁迫响应基因的表达	Saijo *et al.* (2000)
Farnesyl-transferase (*ERA1*)	ABA 感受的负效应物	其下调会增强植物对 ABA 的响应，降低气孔导度，提高抗旱性	Wang *et al.* (2005)
Mn-SOD	Mn- 超氧物歧化酶	过表达会提高植物的抗逆性	McKersie *et al.* (1996)
AVP1	液泡 H^+- 焦磷酸酶	过表达会促进 IAA 的运输，诱导根的生长	Gaxiola *et al.* (2001), Park *et al.* (2005)
HVA1;OsLEA3	胁迫诱导 LEA 蛋白	LEA 蛋白的大量积累提高植物的抗旱性	Bahieldin *et al.* (2005), Xiao *et al.* (2007)
ERECTA	富含亮氨酸重复序列型类受体蛋白激酶(位于拟南芥 2 号染色体)	改变气孔密度、表皮细胞伸展性、叶肉细胞的增殖，从而调控植物的蒸腾效率	Masle *et al.* (2005)
otsA and otsB	*E. coli* 海藻糖生物合成基因	海藻糖的积累与细胞可溶性碳水化合物积累、提高光合性能及植物对光氧化的抗性	Garg *et al.* (2002)
P5CS	δ- 吡咯啉 -5- 羧酸合成酶	增加脯氨酸的合成，提高对渗透胁迫的抗性	Kavi Kishor *et al.* (1995), Zhu *et al.* (1998)
mtlD	甘露醇 -1- 磷酸脱氢酶	甘露醇的积累提高对渗透胁迫的抗性	Abebe *et al.* (2003)
GF14l	14-3-3 蛋白	过表达 GF14l 的品系能够保持常绿表型，增加植物的抗旱性及干旱胁迫下的光合能力	Yan *et al.* (2004)
NADP-Me	NADP- 苹果酸酶	过表达能降低气孔导度并增加水分利用效率	Laporte *et al.* (2002)

3.7.5 抗旱基因工程存在问题

利用基因工程培育转基因抗旱植物，与传统的育种相比较，仍存在着下列一些问题：①由于人们对植物抗旱的分子机制缺乏了解，抗旱分子育种还存在较大的盲目性；②植物的抗旱性是植物多个性状的综合表现，是由多个基因控制，因此采用单基因转移策略提高植物的抗旱性对有的基因和植物有效，对有的基因和植物却无效；③35S 启动子是组成型表达的启动子，利用 35S 启动子与抗旱基因组合会使基因在植物中持续而稳定的表达，在提高植物抗旱性的同时，会造成植株内部资源的浪费，有时也造成植物发育畸形；④外源基因表达水平不稳定，往往在实验室内操作有效，而在大田实验中效果不佳，或者 F_1 代有效，而 F_2、F_3 代效果丢失。因此，寻找和使用诱导型启动子就有很大的研究价值和意义。

主要参考文献

1 董永华，史古平，商振清，等．喷施生长素和赤霉素对土壤干旱条件下小麦幼苗生理特性的影响．华北农学报，1998，13(3)：18～22.

2 管雪强，赵世杰，李德全，等．干旱胁迫下抑制光呼吸对‘赤霞珠’葡萄光抑制的影响．园艺学报，2004，31(4)：433～436.

3 黄霄，杨秀梅，刘训言，等．转正义基因番茄类囊体膜脂不饱和度对抗旱性的影响．山东农业科学，2008 3：37～42.

4 利容千，王建波．植物逆境细胞及生理学．武汉：武汉大学出版社，2002.

5 刘建新，胡浩斌，赵国林．干旱胁迫下多裂骆驼蓬(*Peganum multisectum* Bobr)叶片乙烯释放和多胺含量变化与活性氧积累的关系．生态学报，2008，4：1579～1585.

6 刘友良．植物水分逆境生理．北京：中国农业出版社，1992.

7 沈允钢，施教耐，许大全．动态光合作用．北京：科学出版社，1998.

8 王霞，侯平，尹林克，等．水分胁迫对柽柳组织含水量和膜透性的影响．干旱区研究，1999，16(2)：12～15.

9 王小兰，翁清妹，游艾青，等．褐飞虱诱导的水稻 *RH3* 基因的克隆及其表达特性．科学通报，2003，48(14)：1547～1552.

10 汤章城．植物对渗透和淹水胁迫的适应机理．//余叔文．植物生理与分子生物学．北京：科学出版社，1992，404～416.

11 许长成，樊继莲，邹琦．干旱条件下冬小麦幼苗根细胞膜脂组成的变化．植物学通报 1996，13(2)：21～24.

12 许大全．光系统Ⅱ反应中心的可逆失活及其生理意义．植物生理学通讯，1999，35(4)：273～276.

13 许大全，张玉忠，张荣铣．植物光合作用的光抑制．植物生理学通讯，1992，28(4)：273～243.

14 许旭旦．ABA 等内源激素与植物的抗旱性．植物生理学通讯，1988，1：1～8.

15 许振柱，于振文，亓新华，等．土壤干旱对冬小麦旗叶乙烯释放、多胺积累和细胞质膜的影响．植物生理学报，1995，21(3)：295～301.

16 张岁歧，李金虎，山仑．干旱下植物气孔运动的调控．西北植物学报，2001，21(6)：1263～1270.

17 赵可夫，王韶唐．作物抗性生理．北京：农业出版社，1990.

18 Ashraf M，Iram A. Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. Flora，2005，200(6)：535～546.

19 Bacelar E A, Moutinho-Pereira J M, Gon C, Alves B C, *et al.* Changes in growth, gas exchange, xylem hydraulic properties and water use efficiency of three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Environmental and Experimental Botany, 2007, 60: 183 ~ 192.

20 Bai L P, Sui F G, Ge T D, *et al.* Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize. Pedosphere, 2006, 16(3): 326 ~ 332.

21 Benjamin J G, Nielsen D C. Water deficit effects on root distribution of soybean, field pea and chickpea. Field Crops Research, 2006, 97: 248 ~ 253.

22 Berlin J, Quisenberry J E, Bailey F, *et al.* Effect of water stress on cotton leaves. J. Plant Physiol, 1982, 70: 238 ~ 243.

23 Blackman P G, Davies W J. Root and shoot communication in maize plants of the effects of soil drying. Journal of Experimental Botany, 1985, 36(1): 39 ~ 48.

24 Bloch D, Hoffmann C M, Marlander B. Impact of water supply on photosynthesis, water use and carbon isotope discrimination of sugar beet genotypes. Europ. J. Agronomy, 2006, 24: 218 ~ 225.

25 Bohnert H J, Gong Q Q, Li P H, *et al.* Unraveling abiotic stress tolerance mechanisms—getting genomics going. Current Opinion in Plant Biology, 2006, 9: 180 ~ 188.

26 Bohnert H J, Nelson D E, Jensen R G. Adaptations to environmental stress. Plant Cell, 1995, 7: 1099 ~ 1111.

27 Campos H, Cooper M, Habben J E, *et al.* Improving drought tolerance in maize: a view from industry. Field Crops Research, 2004, 90: 19 ~ 34.

28 Cattivelli L, Rizza F, Badeck F W, *et al.* Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. Field Crops Research, 2008, 105: 1 ~ 14.

29 Chaves M M, Pereipa J S, Maroco J, *et al.* How Plant Cope with water stress in the Field. Photosynthesis and Growth. Annals of Botany, 2002, 89: 907 ~ 916.

30 Clark A J, Blissett K J, Oliver R P. Investigating the role of polyols in *Cladosporium fulvum* during growth under hyper-osmotic stress and in plant. Planta, 2003, 216(4): 614 ~ 619.

31 Davies W J, Kudoyarova G, Hartung W. Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought. J Plant Growth Regul 2005, 24: 285 ~ 295.

32 Dias P C, Araujo W L, Moraes G A B K, *et al.* Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. Journal of Plant Physiology 2007, 164: 1639 ~ 1647.

33 Ehleringer J, Bjrkman O. Quantum yields for CO_2 uptake in C_3 and C_4 plant. Dependence on temperature, CO_2, and O_2 concentration. Plant Physiol, 1977, 59: 86 ~ 90.

34 Ford C W. Accumulation of low molecular weight solutes in water-stressed tropical legumes. Phytochemistry, 1984, 23: 1007 ~ 1015.

35 Gao X P, Pan Q H, Li M J, *et al.* Abscisic acid is involved in the water-stress-induced betaine accumulation in pear leaves. Plant and Cell Physiology, 2004, 45(6): 742 ~ 750.

36 Gigon A S, Matos A, Laffray D, *et al.* Effect of drought stress on lipid Metabolism in the leaves of *Arabidopsis thaliana* (Ecotype Columbia). Annals of Botany, 2004, 94: 345 ~ 351.

37 Hu Y C, Burucs Z, Tucher S, *et al.* Short-term effects of drought and salinity on mineral nutrient distribution along growing leaves of maize seedlings. Environmental and Experimental Botany, 2007, 60: 268 ~ 275.

38 Hong B S, Zong S L, Ming A S, *et al.* Changes of anti-oxidative enzymes and membrane peroxidation for soil water deficits among 10 wheat genotypes at seedling stage. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2005, 42(2): 107 ~ 113.

39 Jaleel C A, Manivannan P, Sankar B, *et al.* Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: *Effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation.* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2007, 60: 110 ~ 116.

40 Katona E, Meimais S, Schnknechst G, Heber U. Photosystem independent cyclic electron transport is important in controlling Photosystem II activity in leaves under conditions of water stress. Photosynth Res, 1992, 34: 449 ~ 469.

41 Keller F, Ludlow M M. Carbohydrate metabolism in drought-stressed leaves of Pigeonpea (*Cajanus cajan*). Journal of Experimental Botany, 1993, 44: 1351 ~ 1359.

42 Khanna-Chopra R, Selote D S. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than-susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany, 2007, 60: 276 ~ 283.

43 Le T N, McQueen-Mason S J. Desiccation-tolerant plants in dry environments. Rev Environ Sci Biotechnol, 2006, 5: 269 ~ 279.

44 Lecoeur J, Wery J, Turc O, Tardieu F. Expansion of pea leaves subjected to short water deficit: cell number and cell size are sensitive to stress at different periods of leaf development. J Exp Bot, 1995, 46: 1093 ~ 1101.

45 Levitt J. Responses of plants to environmental stresses. New York: Academic Press, 1980.

46 Li L, Van Staden J. Effects of plant growth regulators on drought resistance of two maize cultivars. South African Journal of Botany, 1998, 64: 116 ~ 120.

47 Li L, Van Staden J. Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in callus of two maize cultivars subjected to water stress. Plant Growth Regulation, 1998, 24: 55 ~ 66.

48 Li L, Van Staden J, Jager A K. Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in seedlings of two maize cultivars subjected to water stress. Plant Growth Regulation. 1998, 25: 81 ~ 87.

49 Li C Z, Wang G X. Interactions between reactive oxygen species, ethylene and polyamines in leaves of *Glycyrrhiza inflata* seedlings under root osmotic stress. Plant Growth Regu, 2004, 42: 55 ~ 60.

50 Ludwig-Müller. Indole-3-butyric acid synthesis in ecotypes and mutants of *Arabidopsis thaliana* under different growth conditions. Journal of Plant Physiology, 2007, 164(1): 47 ~ 59.

51 Ludwig-Müller J, Schubert B, Pieper K. Regulation of IBA synthetase from maize (*Zea mays* L.) by drought stress and ABA. J Exp Bot, 1995, 46(4): 423 ~ 432.

52 Maeshima M. Tonoplast transporters: organization and function, Annu. Rev. Plant Physiol, 2001, 52: 469 ~ 497

53 Mahajan S, Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: An overview, Archives of Biochemistry and Biophysics, 2005, 444: 139 ~ 158.

54 Martin B, Ruiz-Torres N A. Effects of water-deficit stress on photosynthesis, its components and component limitations, and on water use efficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Physiol, 1992, 100: 733 ~ 739.

55 Martínez J P, Silva H, Ledent J F, *et al.* Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Europ J Agronomy, 2007, 26: 30 ~ 38.

56 Masinde P W, Stützel H, Agong S G, *et al.* Plant growth, water relations and transpiration of two species of African nightshade (*Solanum villosum* Mill. ssp. *miniatum* (Bernh. ex Willd.) Edmonds and *S. sarrachoides* Sendtn.) under water-limited conditions. Scientia Horticulturae, 2006, 110: 7 ~ 15.

57 Maurel C. Plant aquaporins: Novel functions and regulation properties. FEBS Lett, 2007, 581(12): 2227 ~ 2236.

58 Medrano H, Escalona J M, Bota J, *et al.* Regulation of photosynthesis of C_3 Plants in response to progressive

drought: stomatal conductance as a reference parameter. Annals of Botany, 2002, 89: 895 ~ 905.

59 Merchant A, Adams M. Stable osmotica in *Eucalyptus spathulata* responses to salt and water deficit stress. Functional plant biology, 2005, 32(9): 797 ~ 805.

60 Munns R, Sharp R E. Involvement of abscisic acid in controlling plant growth in soils of low water potential. Aust J Plant Physiol, 1993, 20: 425 ~ 437.

61 Netting A G. pH abscisic acid and the integration of metabolism in plants under stress and non-stressed conditions: Cellular responses to stress and their implition for plant water relations. Journal of Experimental Bontany, 2000, 51(343): 147 ~ 158.

62 Nobel P S. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. 4th edition. Oxford: Academic Press, 2009.

63 Osmond C B. Photorespiration and photoinhibition: Some implications for the bioenergetics of photosynthesis. *Biochim Biophy* Acta, 1981, 639: 77 ~ 98.

64 Osmond C B. What is photoinhibition? Some insights from comparison of shade and sun plants. In: Baker NR, Boyer JR. eds. Photoinhibition: molecular mechanisms to the field. Oxford: Bios Scientific Publications, 1994, pp1 ~ 24.

65 Pei Z M, Kuchitsu K. Early ABA signaling events in guard cells. J Plant Growth Regul, 2005, 24: 296 ~ 307.

66 Pilon-Smits E A H, Ebskamp M J M, Paul M J, *et al.* Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress. *Plant Physiology*, 1995, 107: 125 ~ 130.

67 Prymakowska-Bosak M, Przewloka M R, Slusarczyk J, *et al.* Jerzmanowski A Linker histones play a role in male meiosis and the development of pollen grains in tobacco. Plant Cell, 1999, 11: 2317 ~ 2329.

68 Przewloka M R, Wierzbicki A T, Ślusarczyk J, *et al.* The "drought-inducible" histone H1s of tobacco play no role in male sterility linked to alterations in H1 variants. Planta, 2002, 215(3): 371 ~ 379.

69 Raghavan V, Jiang C J, Raageeva B, *et al.* Cell and tissue specific expression of rice histone gene transcripts during anther and polllen development in henbane(*Hyoscyamus niger*). American Journal of Botany, 1992, 79: 778 ~ 783.

70 Reddy A R, Chaitany K V, Vivekanandan M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 2004, 161: 1189 ~ 1202.

71 Sayed O H. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. Photosynthetica, 2003, 41(3): 321 ~ 330.

72 Sauter A, Daries W J, Hartung W. The Long-distance abscisic acid signal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. Journal of Experimental Bontany, 2001, 52(363): 1991 ~ 1997.

73 Schuppler U, He P H, John P C L, *et al.* Effect of water stress on cell division and cell-division-cycle 2-like cell-cycle kinase activity in wheat leaves. Plant Physiol, 1998, 117(2): 667 ~ 678.

74 Shaheen R, Hood-Nowotny R C. Effect of drought and salinity on carbon isotope discrimination in wheat cultivars. *Plant Science*, 2005, 168: 901 ~ 909.

75 Streeter J G, Lohnes, Fioritto R J. Patterns of pinitol accumulation in soybean plants and relationships to drought tolerance. Plant, cell and environments, 2001, 24: 429 ~ 438.

76 Sun W Q, Li X, Ong B. Preferential accumulation of D-pinitol in *Acrostichum aureum* gametophytes in response to salt stress. Physiologia Plantarum, 1999, 105: 51 ~ 57.

77 Taiz L, Zeiger E. Plant Physiology. Second Edition. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. 1998.

78 Taiz L, Zeiger E. Plant Physiology. Fourth Edition. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. 2006.

79 Wanek W, Richter A. Biosynthesis and accumulation of D-ononitol in *Vigna umbellata* in response to drought stress. Physiologia Plantarum, 1997, 101: 416 ~ 424.

80 Wang W X, Vinocur B, Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta, 2003, 218: 1 ~ 14.

81 Wardlaw I F. The effect of water stress on translocation in relation to photosynthesis and growth. I. Effect during grain development in wheat. Australian Journal of Biological Sciences, 1967, 20: 25 ~ 39.

82 Williamson J D, Jennings D B, Guo W W, *et al.* Sugar alcohols, salt stress, and fungal resistance: Polyols-Multifunctional plant protection. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2002, 127 (4): 467 ~ 473.

83 Vendruscolo E C G, Schuster I, Pileggi M, *et al.* Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. Journal of Plant Physiology, 2007, 164: 1367 ~ 1376.

84 Yordanov I, Velikova V, Tsonev T. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. Photosynthetica, 2000, 38(1): 171 ~ 186.

85 Zhang J, Jia W, Yang J, Ismail A M. Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. Field Crops Research, 2006, 97: 111 ~ 119.

思考题

1. 如何测定植物水势的大小?
2. 旱生植物有何形态特征以适应干旱?
3. 作为渗透调节物质必须具备哪些特点? 如何测定植物的渗透能力?
4. 什么是气孔限制和非气孔限制? 如何区分?
5. 植物通过哪些途径以进行干旱逆境下的光保护?
6. 干旱胁迫下植物体内 ABA 为何会增加? 它是怎样引起气孔关闭的?
7. 干旱胁迫逆境蛋白有哪些? 过表达水孔蛋白可以提高植物的抗旱性吗?
8. 当前对于干旱的基因工程措施从研究方向上有哪些? 你是怎样看的?

4 洪涝逆境植物生物学

4.1 涝害的定义和类型

涝害(flood injury)是世界上许多国家的重大自然灾害,水灾是造成损失最严重的自然灾害,占所有灾害损失的40%。根据联合国粮农组织的报告和国际土壤学会绘制的世界土壤图估算,世界上水分过多的耕地约占全部耕地的12%。我国是一个涝害比较严重的国家,约国土面积的2/3存在着不同程度的涝害,尤其以黄淮平原和长江中下游最为严重,占全国受灾面积3/4以上。据统计,我国水灾造成的受灾面积一般年份约为11 000万hm^2,成灾面积6 500万hm^2,而且随着国民经济的发展,水灾造成的经济损失越来越严重。1998年夏天,长江、嫩江流域的特大洪涝灾害给我国造成了极大的危害,直接经济损失达2 000多亿元。

我们把土壤中存在的水分超过**田间持水量**(field capacity)而对植物产生的伤害称为涝害。根据水分超过田间持水量的多少,可划分为**湿害**(water logging injury)和涝害。前者是土壤水分达到过饱和时对植物的危害;后者是指地面水淹没了植物的全部或一部分而造成的危害。

按照Levitt的观点,涝害对植物的伤害主要是次生伤害,即涝害时所造成的次生因素所造成的,即由于土壤中水分过多而导致水中气体平衡破坏,这主要表现为土壤缺氧,CO_2和乙烯增多;土壤中水分过多同时还会造成植物对离子吸收的失调(图4-1)。

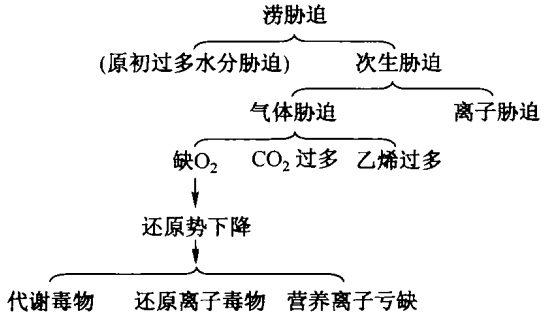


图4-1 涝害的类型

(引自Levitt,1980)

4.2 淹水对土壤的影响

4.2.1 对土壤水—气平衡和气体状况的影响

排水通畅的土壤的 O_2 浓度与大气中的 O_2 浓度(20.6%,20.6 kPa)是相似的,但是淹水后,水分替代了土壤中的空气,土壤内的空气要通过水才能与大气相互交换,但是 O_2 在水中的扩散系数要比在空气中的扩散系数低 10 000 倍,因此土壤与大气的气体交换速率大大降低;另外,O_2 在水中的溶解度很低,即使是被空气饱和了的水,其中的氧含量也仅为空气中的 3%,约 268 μmol/L(与温度有关),这使土壤中的 O_2 被消耗后不能得到迅速补充而造成浓度下降,这样就会显著影响根的呼吸作用,同时还会影响土壤中营养的可获得性。与此同时,涝害还造成土壤中 CO_2、H_2S、H_2、CH_4 和乙烯的积累(Ponnamperuma,1984)。淹水后因植物根系和微生物呼吸释放的 CO_2 受水层的阻碍不能向大气直接扩散,加之 CO_2 在水中的溶解度较高,比同温度下 O_2 的溶解度高 179 倍,故土壤中 CO_2 的浓度很高。室内试验表明,豌豆植株淹水 2 ~ 3 d 后土壤中 CO_2 的浓度可达 17.5%;淹水后土壤中乙烯的增多一个来源是自植物本身产生的乙烯不易通过水层透出,另一个来源是土壤中微生物活动形成的乙烯不易扩散出去而造成了在土壤中的积累。CH_4 的积累主要是微生物发酵的结果,H_2S 的积累是因土壤中硫酸盐被还原,详见下小节的介绍。

4.2.2 对土壤还原势的影响

土壤**还原势**(redox potential)又称为土壤氧化还原势(oxidation/reduction potential)或土壤氧化还原电位。正常旱地土壤的还原势在 400 ~ 700 mV 之间,水田土壤的还原势在 200 ~ 300 mV,长期积水的土壤还原势可降为负值,甚至低达 -300 mV。土壤还原势的高低代表了土壤溶液中电子的可获得性,还原势越高,物质对电子的亲和力越大,物质被还原的趋势也越大。有机物的氧化分解可以在许多末端电子受体存在下进行,这些电子受体包括 O_2,NO_3^-,Mn^{2+},Fe^{3+},SO_4^{2-} 等。在以氧作为电子受体的情况下,物质的分解速度最快,而在以其他物质作电子受体时,速度较慢,并以上面的顺序下降。因为 O_2 的还原势最高,达 400 ~ 600 mV,硝酸盐的为 250 mV,锰为 225 mV,铁在 +100 和 -100 mV 之间,硫化物在 -100 到 -200 mV 之间。在 Eh 低于 -200 mV 时,CO_2 也可以成为电子受体。淹水时土壤还原势的下降一方面影响了根的呼吸作用,另一方面还会导致土壤中物质的大量还原,如当土壤还原势下降为负值后,硫酸盐很容易获得电子和氢而被还原为 H_2S、S^{2-} 或 HS^-(取决于土壤 pH)从而导致 H_2S 的积累并产生毒害。除此之外,NO_3^- 被还原为 NO_2^-,Mn^{4+} 被还原为 Mn^{2+},Fe^{3+} 被还原为 Fe^{2+}(Pezeshki,2001;Ponnamperuma,1984)。

4.2.3 对土壤肥料的影响

土壤淹水会导致土壤中肥料的大量淋失,例如土壤中的无机氮都属于可溶性氮,极易造成淋失。同时,土壤还原势的下降对于土壤中矿质元素的转化会产生很大的影响。

在土壤 O_2 供应充足的情况下,土壤微生物的硝化作用剧烈,在好气的亚硝化单胞菌和硝化细菌的作用下,空气中的 N_2 可被氧化为亚硝酸盐和硝酸盐。但在淹水条件下,缺氧和低氧环境抑制了亚硝化单胞菌和硝化细菌的活动,嫌气的反硝化细菌活动旺盛,可以将土壤中的硝酸盐还

原为 N_2，造成营养的流失。

如前所述，在低的土壤还原势下，土壤中的硫酸盐易被还原为 H_2S，H_2S 可以通过与植物的接触而产生毒害；同时，生成的硫化物容易产生沉淀从而降低了植物对硫元素的可获得性。硫化物还容易与 Zn、Cu、Fe 等形成不溶于水的沉淀，例如当二价铁存在时，它容易与硫化物生成 FeS 沉淀，它附着在植物的根系周围从而产生黑根现象。一些湿地通常呈黑色，即是 FeS 积累所致。

土壤中的磷分为有机磷和无机磷。有机磷不能被植物直接利用，无机磷分为五种：磷酸铁、磷酸铝、磷酸钙、还原态可溶性磷以及由 Fe_2O_3 和 AlO_3 围成的壳包裹着的磷酸铁和磷酸铝。磷必须转化为正磷酸盐（$H_2PO_4^-$ 和 HPO_4^{2-}）时才能被植物利用。水淹往往造成可利用磷的增加，原因在于：①土壤还原势的下降导致不溶性磷酸铁还原为可溶性磷酸亚铁；②从不溶性的磷酸铁/铝复合物中溶出一些磷酸盐；③水淹时土壤溶液中 CO_2 含量很高，它可和不溶性磷酸钙反应生成可溶性磷酸氢钙。土壤中可利用磷含量的升高大约需要几周的时间才能达到，如图 4-2。

水淹条件下，土壤还原势的下降导致土壤中难溶的 Fe^{3+} 很容易被还原为可溶的 Fe^{2+}，Fe^{2+} 的浓度过高会对植物产生毒害作用。土壤中的锰也会由不溶的 Mn^{4+} 还原为可溶的有毒的 Mn^{2+}。

4.2.4 对土壤 pH 的影响

通常状况下，有机质含量多的土壤偏酸性，而矿质含量多的土呈中性或偏碱性，洪涝发生后，不管是中酸性土还是碱性土，都倾向于呈中性（6.5～7.5）（图 4-3）。pH 的变化需要几个星期的时间，这取决于土壤的类型、有机质的含量，土壤微生物的活动以及温度等其他指标。

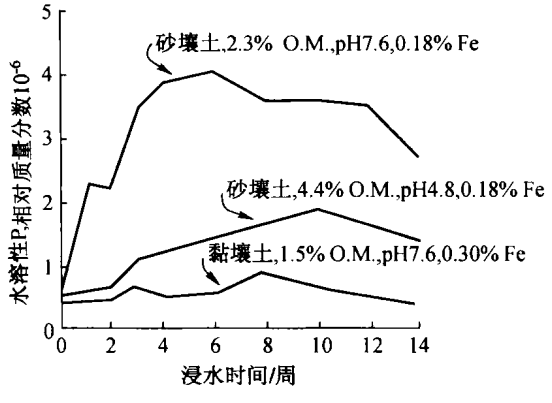


图 4-2 洪涝对土壤中可利用磷含量的影响

（引自 Ponnamperuma，1972）

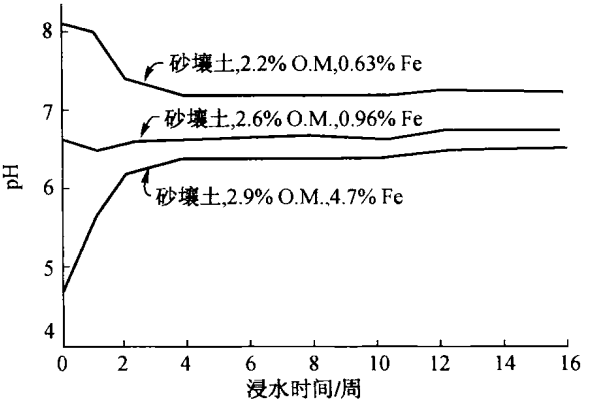


图 4-3 洪涝对土壤 pH 的影响

（引自 Ponnamperuma，1972）

4.3 洪涝对植物形态结构的影响

淹水后植物在形态上表现出一些特有的变化，如叶色失绿、枯萎、脱落，植物的顶端优势减弱，叶片呈现偏上性生长。

4.3.1 根系

在洪涝条件下，土壤中的三相失调，气相被液相所代替，土壤中的 O_2 很快被耗尽，对根系造成很大的伤害，黑根和黄根数剧增。据调查，常规籼稻和粳稻淹没 4 d、杂交稻淹没 6 d，黑根和黄根比例达 100%；水稻淹没 10 ~ 14 d，黑根比例达 90%，部分根系死亡。涝害时不定根大量形成并组成了根系的主要部分。倪君蒂等(2000)发现，半淹处理大大刺激了大豆不定根的生长。Schaffer 等(1994)发现，容器栽培的芒果树长期淹水会在淹水线上形成不定根。Andersen(1984)报道，在淹水条件下，中等耐涝苹果形成不定根。淹水同时还会引起新生不定根的结构的变化，这表现为其皮层细胞大量程序化死亡，其空间形成通气组织，使根变得疏松，内部孔隙度大大增加。汤章城(1981)认为不定根的形成可代替淹水期间死亡的根，并有较快的吸收率。淹水不定根的形成被认为是植物耐淹的重要因子。

涝害还造成根细胞结构和功能的破坏，水淹后根系中的干物质大量消耗，初生根上根毛减少，并逐渐发黑死亡。正常通气条件下，植物初生根根尖细胞细胞核大，细胞质浓厚，有丰富的淀粉粒，线粒体、内质网结构明晰。淹水后，细胞的原生质变稀薄，部分内质网降解成片段，液泡结构模糊。随着淹水时间的延长，线粒体基质变稀，嵴的数目减少(图 4 - 4)；同时质体变形，变为杯状，淀粉粒大量减少，甚至消失。玉米根在淹水达 24 h 后，线粒体内嵴消失，细胞壁明显降解，质体变为杯状质体，内无淀粉粒分布。淹水 48 h 后细胞质已被完全消化，线粒体变形、肿胀，双层膜发生破坏，质体呈现明显消化状态。淹水 72 h 后根尖分生细胞完全死亡解体，仅存尚未完全消化的细胞壁(魏和平等，2000)。

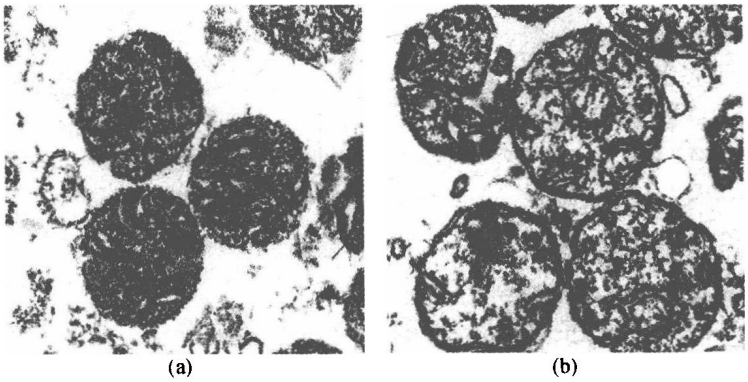


图 4 - 4　水稻线粒体的显微照片

(a) 有氧处理 48 h；(b) 缺氧处理 48 h，无氧处理的线粒体基质密度较低。(引自 Buchanan 等，2000)

4.3.2 叶片

淹涝胁迫严重影响了新叶的形成、叶片的伸展和节间的伸长，促进了叶片的衰老和提前脱落。水稻受涝后，叶片、分蘖、主茎和分蘖节相继死亡。受涝水稻最先死亡的是淹没在水中的叶片，受影响的心叶也会死亡，以后分蘖、主茎及分蘖节相继死亡。

在正常生长条件下，水稻幼苗的叶鞘、叶片中含有丰富的淀粉粒，其中叶鞘中的淀粉粒分布于薄壁细胞中，尤其是靠近表皮层的薄壁细胞中含有较多的淀粉粒，但表皮细胞中无淀粉粒分

布;叶片中的淀粉粒主要分布于叶肉细胞中,叶脉维管束周围的薄壁细胞中只有零星分布,上、下表皮细胞中均无淀粉粒分布。没顶淹水处理 2 d 后,叶鞘、叶片细胞中淀粉粒数量减少,染色变浅,淹水 4 d 后叶鞘薄壁细胞中只剩下零星淀粉粒,叶肉细胞中的淀粉粒已全部降解;淹水 6 d、8 d的叶鞘、叶片中已观察不到淀粉粒,说明细胞中原贮藏的淀粉粒已全部发生降解(李阳生和王建波,2000)。

对于旱生植物而言,部分淹涝就会导致植株生长显著降低,老叶衰老加速、嫩叶上气孔的开度逐步减少并最终关闭。完全淹水对植物叶片细胞的伤害更为严重,玉米幼苗淹水 2 h 后,叶绿体内不再有淀粉粒分布,液泡膜发生明显内陷。淹水 6 h 后,液泡膜内陷加剧,呈极度松弛状态;叶绿体被膜局部向外突出一个由单层膜包裹的泡状结构。淹水 12 h 后,液泡膜局部破裂;叶绿体被膜破坏加剧,成为一松弛的单膜结构,同时,基质类囊体出现空泡化。淹水 18 h 后,叶绿体的破坏进一步加剧:被膜完全消失,基质类囊体开始消化;同时,线粒体膜和核膜也开始出现明显的破坏。淹水 24 ~48 h 后,叶绿体、线粒体和细胞核逐渐解体。最终,在淹水 72 h 后,整体叶片细胞死亡、解体(魏和平等,2000)。

4.3.3 茎

不耐涝的植物在淹水后,植物茎的加粗生长会受到抑制,如纸皮桦(*Betula papyrifera*)(Tang 和 Kozlowski,1982)、复叶槭(*Acer negundo*)、挪威槭(*Acer platanoides*)(Yamamoto 和 Kozlowski,1987)和巴西橡胶树(*Hevea brasiliensis*)(SenaGomes 和 Kozlowski,1988)等。与此相反,对于耐涝植物,在淹水后其茎部会明显变粗,同时伴有皮孔增大、树皮开裂,如靖元孝(2001)报道水翁(*cleistocalyx operculatus*)在水淹时发生如此变化。刘盛全(1999)对季节性淹水条件下木材材性的研究发现:淹水使木材微纤丝角、木材密度等发生显著变化,长江滩地枫杨(*Pterocarya stenoptera*)在不同程度的淹水胁迫时,其木材不同组织比量受到不同程度的影响:在径向上,淹水 1 个月和 2 个月后,导管比量变化趋势相反,而纤维比量、轴向薄壁组织比量和木射线比量变化趋势相近,分别下降了 1.4% 和 4.8%;在轴向上,两组间纤维比量和木射线比量随树高的增加变化趋势相反,导管比量和轴向薄壁组织比量随树高的增加变化趋势相似。肖燕(2007)研究发现当淹水时间超过 2 h,红树植物白骨壤幼苗茎显著加粗,4 ~12 h 处理的茎直径均高于 0 ~2 h 处理。皮层厚度、皮层厚度与茎直径的比值随着淹水时间的延长上升。土壤淹水能够刺激白骨壤薄壁组织的生长和分化(Kozlowski,1997)。皮层厚度的增加对淹水胁迫下 O_2 的储存和运送有着重要的意义,有利于抵抗淹水逆境的胁迫。

4.4 洪涝对植物生理生化过程的危害

4.4.1 水分代谢

土壤淹水后根系的代谢活动减弱,对水分的吸收速率下降,气孔关闭,叶片脱落,蒸腾作用降低,从而使植物吸水困难。因此涝害下会导致植物的生理干旱,许多植物如越橘(吴林,2002)受涝后发生叶片萎蔫现象。

气孔关闭是植物在土壤淹水后最先出现的生理反应之一,原因涉及植物水分状况、激素水平

和植物营养多个方面的改变：土壤淹水后植物叶片水分供应不足、ABA 含量增加、土壤缺氧、K^+ 吸收减少、诱导气孔关闭。

气孔关闭是植物对淹水反应较快的行为，在土壤淹水 1 ~ 2 d 内气孔即可关闭。对于某些不耐涝的植物，气孔能够关闭很长时间；对于一些耐涝植物如 *Fraxinus pennsylvanica*，气孔在关闭两周后又会重新开放，气孔的开放伴随着不定根的大量生成，这时植物又可吸水了（Gomes 和 Kozlowski，1980）。气孔能否尽早重新开放是植物抗涝性强弱和能否存活的一个标志。

4.4.2 呼吸作用

根系呼吸代谢所利用的 O_2，主要是土壤空隙中的自由氧和土壤水中的溶解氧。光合产物经韧皮部输送到地下部后，根系主要通过有氧呼吸分解有机物质，释放 CO_2 和大量能量，维持机体正常的生理功能，如吸收矿质营养等供地上部分生长发育需要。

植物遭受涝害后，土壤中的 O_2 含量将大量减少，这导致有氧呼吸受阻，植物的呼吸代谢以糖酵解为主，糖酵解代谢的末端产物丙酮酸通过乙醇发酵等途径氧化成乳酸、乙醇、乙醛等中间产物，积累到一定程度可能对细胞产生毒害。耐淹能力强的植物及其品种，则能控制糖酵解速率，调节细胞质的 pH，并常采用其他代谢途径，如苹果酸发酵、乳酸发酵等替代乙醇发酵，降低乙醇、乙醛产量以减少毒害，适应缺氧环境。植物的耐涝性被认为与糖酵解相关酶，特别是乙醇脱氢酶（ADH）的诱导特性有关。姜华武等（1999）报道，淹水明显促进玉米根系 ADH 活性；王生（1998）研究发现，淹水胁迫下的杨树无性系苗叶片中的 ADH 活性明显增强。苹果酸酶（ME）对调节乙醇发酵以及磷酸烯醇式丙酮酸与苹果酸的转化、调节细胞质 pH 有一定作用。有研究认为，苹果酸酶活性高低与玉米的耐涝性有关。

4.4.3 光合作用

淹水胁迫下，植物的光合速率在几小时至几天内即会下降，花旗松（*Pseudotsuga menziesii*）幼苗在淹水 5 h 光合速率即会下降。淹水初期光合作用下降的原因主要是气孔关闭，CO_2 供应不足，Davies 和 Flore 在 1986 年在对蓝莓的研究中发现，水涝下蓝莓光合速率的下降的同时，**气孔导度**（stomatal conductance）和**叶肉细胞间隙 CO_2 浓度**（intercellular CO_2 concentration，C_i）下降，它们之间存在很好的线性关系；但也有实验发现 Ci 与对照植株的相似（Vu 和 Yelenosky，1991；Smith 和 Ager，1988），或者高于对照植株（Liao 和 Lin，1994）。C_i 的升高可能是由三种原因所导致的：①光合碳还原能力下降；②呼吸作用所释放的 CO_2 超过了光合作用所能固定的 CO_2，研究发现淹水时呼吸速率大大升高；③气孔阻力加大。这说明光合作用也受到了暗反应酶的活性、RuBP 更新速度的下降以及碳水化合物反馈抑制等非气孔因素的影响（Bradford，1983；Wample 和 Davis，1983；Vu 和 Yelenosky，1991），长时间淹水还导致叶绿素含量下降，叶片早衰和脱落。连洪燕（2008）报道石楠淹水或半淹水后叶绿素含量下降，光合速率显著下降，光合速率的降低主要是由气孔因素造成。土壤淹水不仅降低光合速率，光合产物的运输也有所减慢。渍水下净光合速率与产量的变化呈显著正相关，可作为耐渍性选择指标。

4.4.4 矿质营养

除了前面所阐述的淹水会影响土壤中矿质元素的供应外，淹水还影响植物对矿质元素的吸

收。淹水对离子吸收的影响因离子种类的不同而表现为抑制、影响不大和促进吸收3种方式。

第一类:吸收受抑制的养分有氮和钾等,这些养分进入细胞膜内是需要能量的吸收过程。土壤淹水后ATP合成减少,能量供应不足,离子的主动吸收过程受到抑制。例如,大麦幼苗淹水6 d后,地上部氮、钾的含量都还不足对照植株的10%。很多植物淹水后不久就出现叶片黄化现象,这就是因氮素吸收不足引起的缺氮症状,在涝害过后向土壤中增施氮肥或根外喷施氮肥都可以减轻叶片黄化现象。

第二类:养分吸收受暂时性淹水的影响不大,吸收速率与植株生长速率同步,因而体内含量变化较小,这类元素包括钙和镁等。根系对它们的吸收为不需消耗能量的被动过程,植株在吸收水分的同时也摄入这些离子。因此,淹水后虽然能量供应不足,但并不影响对它们的吸收速率。

第三类:在淹水后会增加离子吸收速率,提高体内的含量。钠就是典型的例子,在淹水条件下,根细胞膜会遭到破坏,从而降低了植物对离子吸收的选择性。此外,由于ATP供应不足,钠与氢反向传递体的作用受阻,结果导致过多的钠进入植物体内,组织内含钠量上升。

4.4.5 植物激素

土壤淹水后改变了植物内源激素的合成和运输,改变了植物激素的含量和各种激素的比例。土壤淹水后根内乙烯含量急剧升高,它是淹水胁迫下植物体内含量变化最大的激素。除此之外,IAA、GA和CTK以及ABA的含量也会发生相应的变化,但其变化可能与植物的种类和不同的植物部位有关。

很多研究都报道淹水可引起许多植物体内乙烯水平的显著提高,甚至可达20倍以上(姜华武等,1999)。乙烯的合成主要是受到植物低氧分压的促进,低的氧分压促进了ACC合成酶的活性,促进乙烯的直接前体ACC的合成;在番茄受到淹水胁迫后,根中的ACC大量合成,然后在6~12 h内便被运往地上部分,在那里被立即氧化成乙烯。事实上,在厌氧胁迫下,根中只能积累ACC而不能在此转化成乙烯,因为完全缺氧是抑制乙烯的合成的,ACC的氧化需要O_2(见图4-5)。植物体内乙烯含量的增多,除了合成的增多外,还有另外两个原因:①植物体内合成的乙烯通过水中逸出的减少,乙烯从水中逸出的速度慢于自空气逸出的速度(自空气中逸出的占总量的97%,而自水中逸出的仅占总量的22%);②来自土壤的外源乙烯(水淹时的土壤微生物合成)。

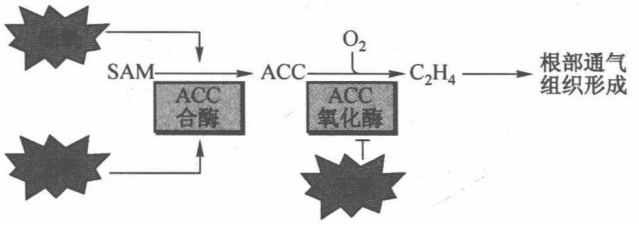


图4-5 低氧分压促进乙烯的合成,促进通气组织的产生

(引自Buchanan等,2000)

一般情况下,水淹时还导致植物地上部分ABA、IAA含量增加,而GA和CTK的含量降低,但也有IAA含量不变、ABA含量下降和GA含量升高的报道。正常生长条件下,根系合成的ABA向地上部运输较少,而地上部合成的ABA向根系运输的多;淹涝后可能加速了地上部的ABA的合成,减少了向根系运输的数量。IAA的浓度之所以升高,可能是地上部分ABA和乙烯含量升高后,抑制了IAA的向下运输。GA和CTK的含量降低,可能是由于水涝阻断了其合成或是自根中向地上部分运输的缘故,但也有水涝促进GA合成的报道。

4.5 植物抗涝机制

植物对涝害的适应性有两种方式：**避涝性**(flood avoidance)和**耐涝性**(flood tolerance)，避涝性是指植物通过结构上的屏障将水涝这一逆境因子屏蔽于植物之外，即在外界缺氧的情况下仍能获得 O_2，并把有害物质排出体外，从而避免涝害；而耐涝性是指植物通过生理上或代谢上的改变，从而忍耐因水淹缺氧所导致的胁变。

4.5.1 植物避涝性

(1) 茎秆的快长

一些植物如深水水稻，随着水位升高，植物茎秆不断伸长，植株向上伸长的速度达到每天可达 20～25 cm，最终可长到 7 m 高。这种水稻茎秆的迅速伸长，有利于 O_2 输送，CH_4 和 H_2S 的排放，以及缺氧代谢最终产物的排出。这是植物对水涝胁迫的一种适应性，玉米、小麦和向日葵在水涝中也会出现这种现象。

(2) 根系生长的表层化

一些浅根湿生植物，在涝胁迫条件下，其根系多分布在土壤表层，便于吸到 O_2，并且伴随根系的表层化，根系变细，根毛增多。根系能减少 O_2 在细胞中扩散的阻力，又不会形成根中部细胞的缺 O_2，还可以增加根系表面积，有利于 O_2 的吸收。还有一种湿生植物如红树类的海榄雌，它们的茎在淹水丛水面上可以形成出水呼吸根，O_2 能扩散到呼吸根的组织中，而且呼吸根细胞间存在较大空隙，可以储存 O_2，通过呼吸根将 O_2 送到根部。

(3) 不定根的产生

不定根(adventitious root)的产生是植物适应淹水胁迫的一项重要措施。淹水后茎的基节部和茎节往往会长出不定根，不定根大多发生在水体表层或含氧较丰富的土壤表层，能够从环境中获取 O_2，维持植株正常的生理代谢。另外，不定根还能代替原有的根系，行使代谢功能。淹水诱导茎节产生不定根典型的例子是深水稻。深水稻随着洪水水位升高，植株向上生长，茎秆不断伸长，漂浮在水面上，在水表层的茎节处长出不定根，从水中吸收营养。玉米、小麦、向日葵和苹果等旱生植物在涝害发生时也会长出不定根。例如在淹涝环境中，玉米幼苗基节部不定根的发生和形成明显加强，不定根原基发生明显早于正常幼苗(魏和平和利容千，2000)。

(4) 形成气生根

一些红树植物适应长期生活在海水中，形成**气生根**(aerial root)就成了它们应对厌氧胁迫的主要机制，如白骨壤(*Avicennia germinans*)会在茎上生成指状的气生根、在根上发出笋状的气生根以帮助气体的交换；红海榄主干上长出很粗的支柱根(prop roots)，支柱根具有支撑和呼吸的功能，根中的通气组织相当发达，下陷的气孔、皮孔等都有助于体内外气体交换。木榄属(*Bruguiera*)和榄李属(*Lumnitzera*)中的膝状呼吸根和表面根都起到气体交换的作用。

(5) 皮孔膨大

肥大**皮孔**(lenticel)形成同样被认为是植物对水分过多的一种适应性反应。根系表面的皮孔是气体交换的门户，例如，萌芽白骨壤和大红树(*Rhizophora mangle*)通过皮孔可以从地上向地下部分运送空气。在许多红树植物的地上部分的根系皮孔周围，可见剥落的组织，它们构成了内部

组织与外间环境进行气体交换的门户。白骨壤具有皮孔的假根在淹水后 3 min 后可以完全恢复 O_2 的运送，而没有皮孔的假根至少需要 10 min 才能恢复根内氧气的运送。皮孔不仅有利于 O_2 的进入，也有利于挥发性物质如乙醇和乙烯等的排出(Hovenden，1994)。

(6) 形成通气组织

水淹条件下植物表现出的最显著变化是**通气组织**(arenchyma)的大量形成(图 4-6)。淹水条件下，植物会形成通气组织或类似通气组织的结构以利于 O_2 进入。如伞房花越橘在长时间(4~30个月)淹水下，根的表皮层产生类似通气组织的结构。目前，在根、块状根、茎以及叶片中均发现了通气组织；在一些湿地植物中，通气组织主要存在于根系中，例如水稻，通气组织几乎是其根系的一个不变特征。

一般认为通气组织分为溶生性和裂生性两种：溶生性通气组织是由皮层细胞的整个细胞自溶死亡，从而形成从叶、茎、茎的基部到根系连续的充气通道。裂生性通气组织是皮层细胞相互间分开，细胞间留下孔隙，但不产生新细胞。通气组织能增加 O_2 从地上部传送到根部。O_2 也能从根细胞渗漏出去，在根际区形成一个有氧的微环境；其他气体，如 CH_4、CO_2、N_2 也能经过通气组织释放到大气中。

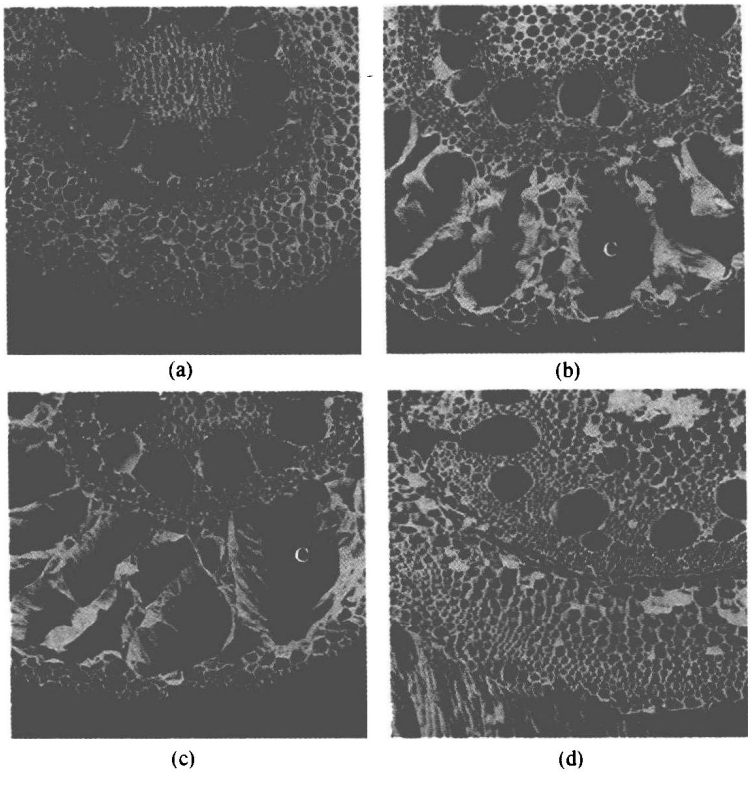


图 4-6 水淹促进玉米根中通气组织的形成

(a)生长于通气溶液的对照植株；(b)用 5 μL/L 乙烯处理过的植株；(c)生长于不通气溶液的植株；(d)弱光、溶液通 N_2 处理的植株。图中 C 处是根皮层中的空腔。(引自 Drew 等，1997)

淹水胁迫下植物通气组织的形成与缺氧胁迫下乙烯的大量合成有关，此点前面已有所论述。大量的乙烯促进了纤维素酶、果胶酶的活性，溶解细胞壁，增加了细胞间隙。同时乙烯引起皮层

细胞的程序化死亡,导致了通气组织的形成(图 4 - 7)。

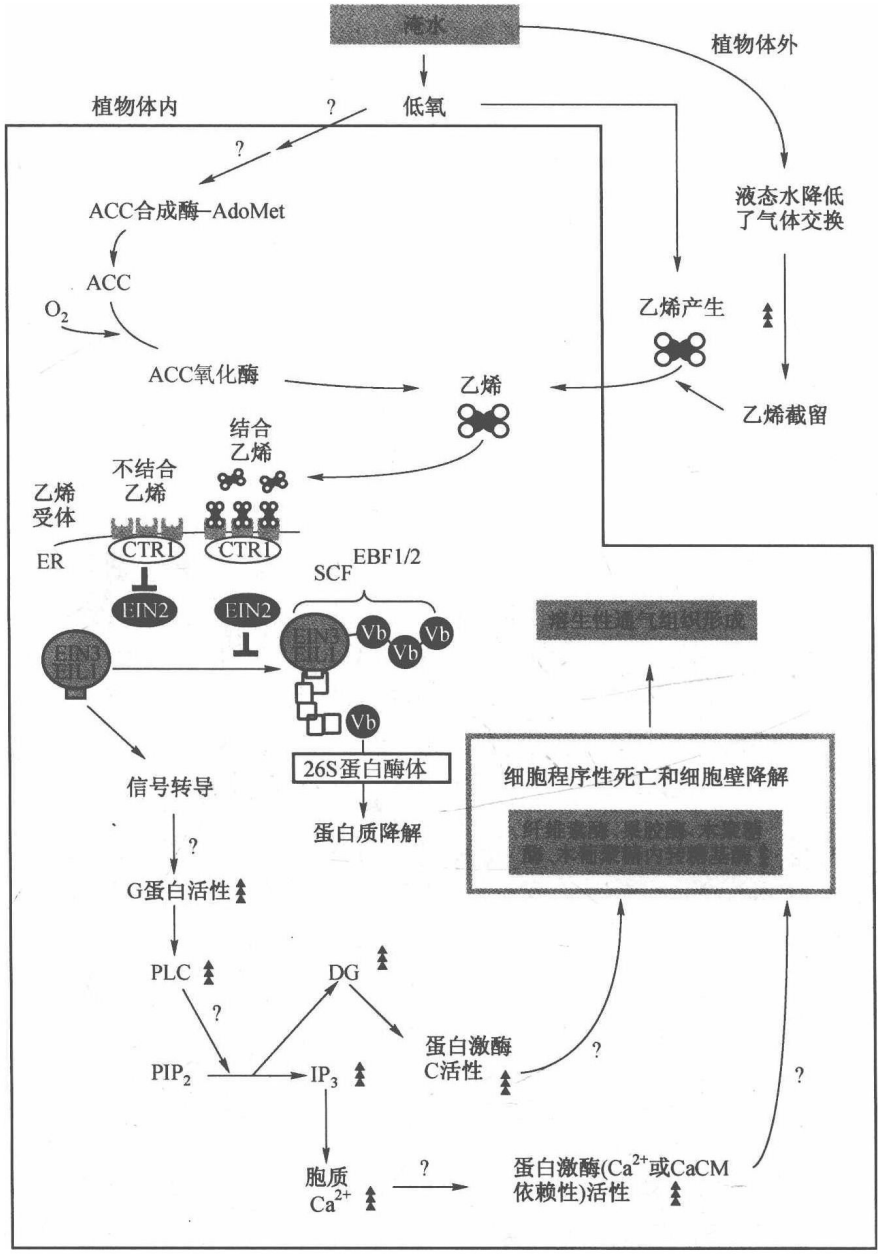


图 4 - 7　溶生性通气组织形成的可能机制

AdoMet:S - 腺苷蛋氨酸;ACC:1 - 氨基环丙烷 - 1 - 羧酸;ER:内质网;PLC:磷脂酶 C;IP_3:1,4,5 - 三磷酸肌醇;PIP2:4,5 - 2 磷酸 - 磷脂酰肌醇;DG:1,2 - 二酰甘油;CaCM:Ca - 钙调素。(引自 Shiono 等,2008)

水淹胁迫下通气组织的形成具有非常重要的意义:其一为根系提供呼吸代谢所需的 O_2。在水淹时,贯穿于植物根、茎、甚至叶中的质外体气体通道所组成的通气组织源源不断地将氧由地上部向根系输送呼吸所需的 O_2;其二调节根际的还原势。淹水引起根际环境的最大变化是根际 O_2 逐渐耗竭,还原势降低,好氧微生物活动减弱而厌氧微生物活动增强,这会引起氧化物的还原

和植物有毒物质的积累。通气组织不仅向处于缺氧环境中的根组织提供呼吸代谢所需的 O_2，而且植物的根轴也通过通气组织径向地向根际释放 O_2。这种根系释放的 O_2 必然参与根际还原性无机物和有机物的氧化，提高土壤的还原势，改善土壤条件；其三排泄废气。通气组织与根际的气体交换不仅表现在植物向根际释放 O_2，而且还可以通过通气组织排泄一些对植物有害的代谢废气如 H_2、甲烷等。Kludze(1993)在对水稻的研究中发现：水稻根际土壤中产生的90%以上的 CH_4 通过通气组织释放到大气中，只有很少一部分甲烷是通过气泡、扩散等形式从水面排出。

(7) 形成有氧根际

如前面所述，一些湿生植物形成通气组织后，根系能伸长到深层厌气土层中，根部的部分 O_2 能渗漏到根外，形成有氧微环境。这种有氧微环境可将缺氧环境下土壤中过量积累的可溶性还原性物质如 Fe^{2+}、Mn^{2+} 等氧化，形成难溶的氧化物，在根表面形成一层氧化膜，从而阻止这些金属元素进入细胞内产生毒害作用。

4.5.2 植物耐涝性

(1) 呼吸代谢的调控

缺氧会触发植物的糖酵解过程，首先表现为乳酸脱氢酶(LDH)活性升高，乳酸发酵。当胞质中 pH 达到 6.8 时，乙醇脱氢酶(ADH)与丙酮酸脱羧酶(PDC)被激活，迅即进入乙醇发酵途径。无氧呼吸是植物潜在的代谢功能，当根细胞中 O_2 浓度低于某一个临界氧分压时，植物自动以还原性中间代谢产物为末端电子受体，能量转换效率显著降低，每分子六碳糖只产生 2 个 ATP 分子，它可作为一种补救途径以维持细胞存活。湿生植物除了其他适应机制以外，其无氧呼吸功能强，酶活性高，可以维持较高的能荷水平而正常生长(王文泉和张福锁，2001)。

淹水导致植物代谢以乙醇发酵为主，末端产物乙醇的过量积累对细胞会造成一定的毒害效应。植物适应淹涝环境的代谢途径之一就是用其他糖酵解发酵途径替代乙醇发酵，减少乙醇的积累。例如植物也可以进行乳酸发酵、苹果酸代谢(苹果酸向丙酮酸转化)、琥珀酸合成、谷氨酸转化(由谷氨酸转变成 γ－氨基丁酸)等，这些都可以降低乙醇的积累。

在缺氧时线粒体的功能也并非完全停止。事实上，线粒体内膜上存在着两种末端氧化酶：细胞色素 c 氧化酶和交替氧化酶(AOX)，这两种末端氧化酶对 O_2 的亲和力差别很大，AOX 对 O_2 的 K_m 值约为 30 μmol/L，为空气饱和水中 O_2 浓度的 10%，而细胞色素 c 氧化酶的 K_m 是140 nmol/L。因此可以想象，在水涝条件下，AOX 的活性下调，对呼吸作用并没有多大的意义，但该酶在涝害下会大量表达，其作用在于一旦涝害解除后，植物突然又获得足够多的 O_2 的供应，AOX 的存在可以防止植物产生大量自由基。

细胞色素 c 氧化酶对 O_2 的亲和力较高，仅当线粒体内 O_2 浓度低于细胞色素 c 氧化酶的 O_2 饱和点时(约 0.1～0.2 μmol/L)，这时才能称得上是完全厌氧(fully anaerobic)。即使此时，线粒体内仍可进行部分三羧酸循环(partial TCA cycle)，在此循环中柠檬酸运出线粒体，在细胞质中生成谷氨酸。在从 TCA 循环向部分 TCA 循环的转换中，NO 起了诱导作用，因为 NO 可以抑制 TCA 循环中顺乌头酸酶的活性。

线粒体的结构和功能在厌氧时仍保持完整，但 NO_3^- 对它有破坏作用，虽然 NO_3^- 可以作为中间电子受体。

(2) 脂类代谢

缺氧胁迫还引起线粒体、叶绿体、脂质体等积累脂类物质。普遍认为缺氧条件脂类物质的积累对细胞生存是有害的,但有一点应注意:脂类物质的合成原料是碳水化合物通过糖酵解过程形成的乙酰辅酶 A,有了这一过程就避开了乙醇发酵途径,从而不产生大量乙醇,也不会引起细胞质 pH 变化。此外,储存的脂类物质在植物解除缺氧胁迫时,又能作为能源为细胞所利用。

(3) 激素调节

厌氧下首先触发乙烯增生,诱导通气组织和次生根的形成,以缓解缺氧。根中 CTK 与 GA 迅速下降,根的生长速率因此下降;CTK 向地上部的运输量减少,以致整株生长速率下降。叶片中 ABA 积累乃是老叶合成增加的一种反映,转运到幼叶中诱导气孔关闭,蒸腾减少,生长受抑,老叶枯萎以适应存活。

乙烯是植物适应淹水胁迫的重要激素,有人将其称之为淹水胁迫下的应激激素。在中生植物中,乙烯通常是抑制茎的伸长生长,导致叶片的萎蔫和蜷缩的。但与此相反,乙烯却能促进半水生植物(semi-aquatic plants)茎的伸长生长,透出水面,使植物避开水分胁迫。除此之外,乙烯的作用还有:①刺激通气组织的发生和发展,在此过程中 IAA 与 C_2H_4 的作用是协同的,C_2H_4 浓度增高诱导纤维素酶、木葡聚糖内转葡萄糖基酶等的活力增强,使细胞壁分离和分解,同时乙烯还通过促进皮层细胞的程序化死亡而为通气组织提供空间(Asai 等,2002;Rao 等,2002);IAA 诱导细胞伸长,加速了通气组织的发展。②刺激不定根生成和皮孔增生,这些不定根的内部形成纵向连续的充气空间,它与茎叶空腔和细胞间隙相通,形成 O_2 从大气向内扩散的连续途径。③诱导叶柄的偏上生长。④C_2H_4 还可促进根系木质化和栓质化,使根中氧的径向泄漏减少,根尖氧浓度相应提高。

在淹水后次生根的产生中,也存在着 IAA 和乙烯的协同作用(Visser 等,1996),从茎的基部产生不定根是植物对水涝的重要适应,在植物水淹后被立即启动(图 4-8)。虽然 IAA 的含量在水淹后没有明显变化,但植物体内地上部分存在的 IAA 的向基运输对于维持 IAA 的浓度起了关键的作用;另外 IAA 在水淹下也诱导了新的形成。Klok 等(2002)研究发现在对拟南芥进行厌氧处理后,有两个 IAA 响应基因(*IAA2*,*IAA3*)的转录水平立即升高,也说明了 IAA 在适应水淹胁迫下的重要作用。因此也有在涝害胁迫下植物体内 IAA 含量升高的报道。

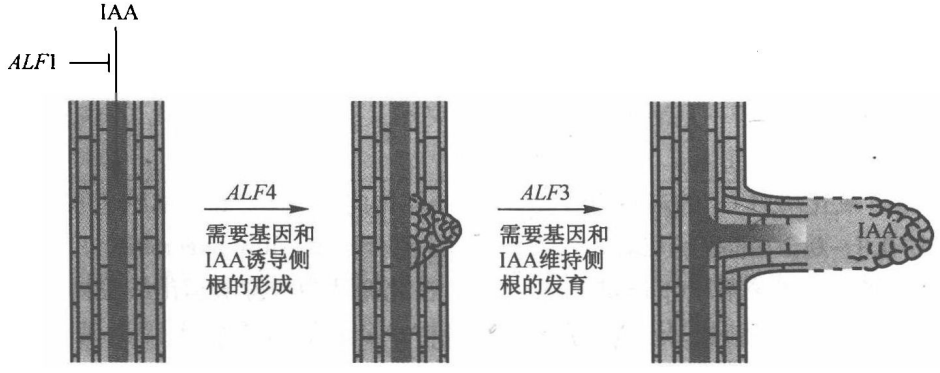


图 4-8 IAA 促进侧根形成的机理

(引自 Taiz 和 Zeiger,2002)

淹水后植物体内 ABA 含量的变化并没有一致的结论:Else 等(1995)发现,番茄在淹水后叶片内 ABA 含量上升,Newman 等(1991)也报道菜豆 *Phaseolus vulgaris* 在水淹后木质部汁液中的 ABA 浓度成倍增加,Ellis 等(1999)和 Hwang 等(1991)发现施加外源 ABA 能够提高拟南芥和玉米耐缺氧的能力。但也有与之相反的研究结果:如拟南芥中的 ABA 含量在水淹时保持恒定(De Bruxelles 等,1996),淹水的水稻伸长的节间以及毛茛 *Ranunculus sceleratus* 中 ABA 含量下降(Azuma 等,1995;Smulders,1991)。伸长组织中 ABA 浓度的降低有利于叶柄的延伸生长。可见,淹水后植物体内 ABA 的变化与它与 GA 之间的颉颃关系有关。在植物的许多生长反应中,ABA 和 GA 互为颉颃剂,对于 GA 促进茎的伸长生长的作用也已得到了广泛的证明(Hoffmann-Benning,1992)。

在淹水胁迫下,有许多 GA 含量增加的报道(Summers 等,1996)。GA 对于 C_2H_4 含量的上升非常敏感,事实上,GA 和乙烯在促进茎的伸长生长方面是相互协同的,乙烯一方面诱导内源 GAs 增加,另一方面还提高叶柄中 GA 的敏感性,一旦施加 GA 的抑制剂,乙烯和淹水所诱导的生长即被抑制。GA 还可以诱导促进细胞壁松弛的酶(如伸展蛋白)的表达,但 GA 虽有利于叶柄的延伸生长,却不利于淹水忍耐。Setter 等(1996)研究表明,外加 GA 可降低淹没下植株的生存率;GA 缺乏突变体有高水平的淹水忍耐能力,外加 GA 合成抑制剂使水稻幼苗生存率提高 50 倍,但使延伸生长降为最低。在延伸生长与淹水存活率之间之所以存在负相关,是因为二者之间竞争能量。

最后,研究发现细胞分裂素 CTK 在水淹下含量下降,如向日葵在淹水 24 h 后 CTK 含量急剧下降(Burrows 和 Carr,1969)。CTK 含量的下降与淹水后根部含氧量降低有关,而根尖是 CTK 合成的主要部位;不过 CTK 含量的降低是由于合成的减少所致还是从根中向地上部分运输的减少所致仍是未知。最近,Zhang 等(2000)将与 CTK 合成有关的 *ipt* 基因(编码玉米素形成过程中的异戊烯基转移酶)转入拟南芥,提高其在水涝下的表达,发现它可以通过延缓由涝害导致的衰老而提高拟南芥的抗涝性。

我们把植物激素在涝害适应中的作用概括于图 4-9。

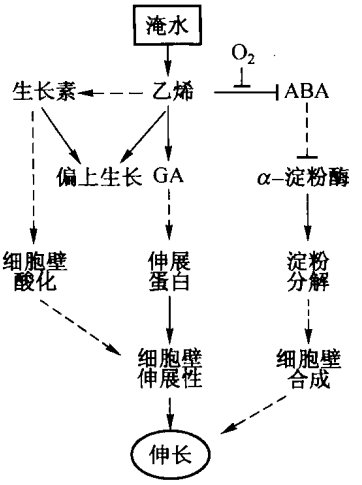


图 4-9 涝害下耐涝双子叶植物酸模 *Rumex palustris* 叶柄伸长中的信号转导与反应示意图

图中虚线部分表示存在尚未证实的作用。(引自 Voesenek 等,2003)

(4) 厌氧蛋白

植物在受到低的厌氧胁迫下,植物体内某些蛋白的表达增加,人们称之为**厌氧蛋白**(anaerobic proteins,ANPs),不同植物在厌氧胁迫下产生的 ANPs 的种类和数量存在差异,如玉米的初生根、水稻胚、番茄种子等在受到厌氧胁迫时会产生 20 多种厌氧蛋白。这些厌氧蛋白按功能主要可归为三类:一类是调节糖酵解底物水平的酶如蔗糖合成酶(将蔗糖分解成葡萄糖和果糖)与淀粉水解酶(α-淀粉酶)、一类是与糖酵解途径相关的酶(磷酸葡萄糖异构酶、1,6-二磷酸果糖醛缩酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶)、第三类是醇发酵相关酶(乙醇脱氢酶、丙酮酸脱羧酶)。除此之外,Good 和 Crosby(1989)发现在大麦根中丙氨酸氨基转移酶的活性也有所升高,该酶参与丙酮酸代谢的另一条支路。乳酸脱氢酶是参与丙酮酸代谢生成乳酸的另一个关键酶,在缺氧时其活性也显著升高。

水淹除了诱导与能量合成相关蛋白的表达外，还诱导了一些其他蛋白的表达。如木葡聚糖内转葡萄糖苷酶(XET)，这是一种与细胞壁合成和细胞伸长有关的酶，它在一些耐淹品种中随淹水时间的延长而表达量增强，而在非耐涝品种中无表达或者表达量很低。腺苷酸激酶、丙酮酸磷酸双激酶、1－氨基环丙烷－1－羧酸酶的活性在缺氧时也受到促进(表4－1)。

表4－1 植物根系涝渍胁迫诱导含量(或活性)增加的蛋白质(引自姜华武和张祖新，1999)

蛋白质(酶)	来源	蛋白质(酶)	来源
糖酵解相关的酶		氮代谢相关的酶	
淀粉磷酸化酶	黄菖蒲	丙氨酸氨基转移酶	大麦
烯醇化酶	玉米	谷氨酸脱羧酶	玉米
乙醇脱氢酶	玉米	细胞解体相关的酶	玉米
乳酸脱氢酶	玉米	ACC 合成酶	玉米、水稻
丙酮酸脱羧酶	玉米	木葡聚糖内转葡糖基酶	玉米
蔗糖合成酶	玉米	纤维素酶	玉米、水稻
磷酸葡萄糖异构酶	玉米	其他	
醛缩酶	玉米	G－盒结合蛋白	玉米、拟南芥
3－磷酸甘油醛脱氢酶	玉米	血红蛋白	玉米、小麦
PPi:Fru－6－Pi 磷酸转移酶	玉米	焦磷酸酶	水稻
甲酸脱氢酶	玉米	细胞色素 c	玉米、酵母
NADP－苹果酶酿	玉米	磷脂酶 D	玉米

4.5.3 植物对涝害的分子响应

(1) 植物对涝害的感知与响应

在水涝胁迫下，植物所生活的环境与植物本身都会发生一些特殊变化，从而使植物感知涝害的来临，做出相应的反应。目前所认为的潜在的涝害胁迫的感受体有：

① 活性氧平衡的破坏　由于线粒体本身的主要功能在于有氧呼吸，因此使得线粒体对于周围氧浓度的变化非常敏感。O_2作为有氧呼吸中电子的最终受体，使之易于产生活性氧作为呼吸电子传递的副产品，涝害下氧含量的变化会影响活性氧的产生量，由此被植物所感知。

② 低 pH　低氧胁迫所引起的第一个细胞反应就是细胞质的酸化，这一点被认为对于植物在水淹下的生存至关重要。在水淹时，细胞质的 pH 降到 7 以下，这是乳酸脱氢酶的最佳 pH，同时也是丙酮酸脱羧酶的活性 pH 范围。于是丙酮酸被转化为乙醛并进一步转化为乙醇，由此呼吸从一条途径转向另一途径。水淹下细胞质的酸化是一个发生非常早的事件，早于细胞的死亡和通气组织的形成，研究证明，细胞质的酸化早于水涝胁迫下 ABA 调节气孔的关闭，另外，Denison(2000)发现 pH 下降还能调节真菌的一些基因的表达，Tournaire-Roux(2003)还发现细胞质的酸化对水通道蛋白以及一些质膜内在蛋白具有调节作用，因此 pH 也可以作为一个涝害信号。

③ 钙离子　Subbaiah 等(1994)用钌红(ruthenium red，Ca^{2+}转运抑制剂可以阻止 Ca^{2+}内流)

及^{45}Ca标记来处理水淹下的玉米，通过对玉米根的分析发现水涝下钕红可以阻止玉米根对^{45}Ca的吸收，同时钕红还造成无氧代谢不能启动，使乙醇脱氢酶、蔗糖合成酶的基因不能正常表达、乙醇脱氢酶的活性降低。这一实验结果间接证明Ca^{2+}对厌氧基因表达是必需的。Ca^{2+}参与厌氧信号传递。但是对于低氧如何改变胞质中Ca^{2+}浓度，以及Ca^{2+}信号又如何被厌氧基因接受，迄今尚无明确的解释。

④ 血红蛋白　**血红蛋白**(hemoglobin，Hb)作为动物体中O_2的运输工具已经得到确认。Terwilliger(1998)提出血红蛋白是植物缺氧的胞内信号。血红蛋白中有一种Ⅰ型血红蛋白(Class Ⅰ hemoglobin)，其表达对缺氧很敏感。该蛋白对氧的亲和力极高，其K_m比细胞色素c氧化酶都低了两个数量级，因此在O_2浓度极低，细胞色素c氧化酶不能发生作用时，它可以通过介导NO的清除来实现缺氧时NADH的氧化，并保证细胞维持一定的能荷(Igamberdiev等，2005)。

⑤ NO　一氧化氮(nitric oxide，NO)是生物体中一种重要的氧化还原信号分子和毒性分子，也是一种活性氮(reactive nitrogen species，RNS)。在植物体内可以通过酶促途径，主要通过一氧化氮合酶(nitric oxide synthase，NOS)和硝酸还原酶(nitrate reductase，NR)催化合成，以及非酶促途径合成。非酶促途径依赖于酸性细胞质和亚硝酸盐的存在。非常有趣的是，在厌氧条件下，细胞质被酸化，同时亚硝酸盐积累，这易于淹水时NO的形成(厌氧时硝酸还原酶被诱导，导致NO_2^-的积累)；除此，最近还发现了一种定位于质膜上的亚硝酸-NO还原酶(Nitrite-NO reductase，NI-NOR)，它也参与根中NO的形成。之所以NO被认为是一种厌氧信号，是因为NO的合成被厌氧所促进，另外，NO还参与自由基反应、可以可逆性地与金属蛋白或特殊蛋白的氨基酸残基结合、并同血红蛋白一起对细胞能荷起到调节作用(图4-10)。

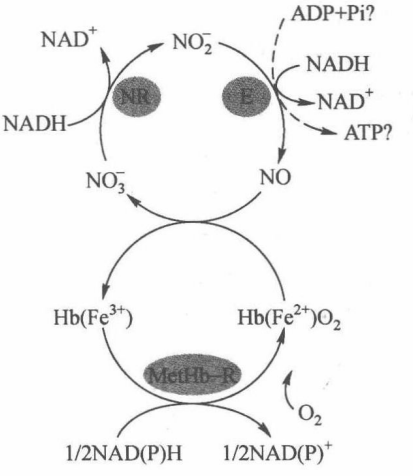


图4-10　血红蛋白与NO相互作用(Hb/NO循环)导致NADH的更新和能量状态的改善

图中NR：硝酸还原酶；E：假定的厌氧条件下NO的几种来源，包括硝酸还原酶、质膜上的亚硝酸-NO还原酶、NO合成酶等；NO被Hb(Fe^{2+})O_2氧化成NO^{3-}，Hb(Fe^{2+})O_2变成Hb(Fe^{3+})，Hb(Fe^{3+})被MetHb还原酶(MetHb-R)还原为Hb(Fe^{2+})，由于后者与O_2的高亲和力，它又被立即氧化，进入下一轮循环。在线粒体内亚硝酸盐还原成NO的过程中伴有复合体Ⅰ对NADH的氧化，复合体Ⅰ是ATP合成的一个耦联部位，可以改善植物的状态。(引自Igamberdiev等，2005)

NO也被认为是另一种气体激素，它可以促进乙烯的合成、叶片的伸展、种子的萌发、叶片的去黄化，同时还能诱导抗病基因的表达、促进植物细胞的过敏反应(一种程序性死亡)。除此之外，NO还可以与细胞色素氧化酶和血红蛋白结合，从而竞争性抑制细胞色素氧化酶与O_2的结合，降低血红蛋白携带氧的能力。NO和植物激素有很复杂的互作关系，NO和IAA都能促进根器官的形成，NO是IAA诱导根的形成信号途径的重要组成部分。例如NO或IAA均可促进黄瓜胚轴外植体根器官的形成，实验表明，用IAA处理黄瓜胚轴外植体引起内源NO的升高。在水涝胁迫下，外源NO气体处理可使植株大量释放乙烯，说明NO参与了乙烯的合成诱导；NO同时还参与了ABA的合成。在水分胁迫下NO还可作为ABA信号传递的关键组分，参与ABA调节气孔的过程。

NO 在细胞信号转导中起着重要作用(图 4-11)。NO 可以与鸟苷酸环化酶(guanylate cyclase)的血红素基团结合,将鸟苷酸环化酶激活,从而增加 cGMP 的浓度,开启 cGMP 信号转导途径。除此 NO 还可以活化 cADP-核糖环化酶、通过 cADP-核糖和 Ca^{2+} 途径进行信号转导。Durner 等(1998)已经证实了 NO 在被烟草花叶病毒感染的烟草中证实了 NO 与 cGMP 途径的关系,而 cGMP 途径被证实与玉米中通气组织的形成有关。

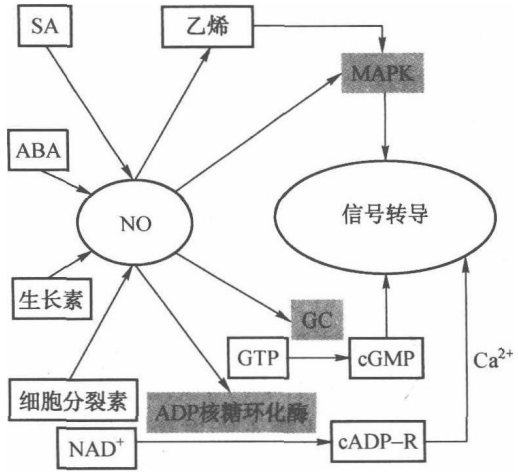


图 4-11 植物激素以及 NO 在涝害信号转导中的可能作用示意图

NO 的产生可能被 CTK、IAA、ABA、SA 等多种植物所促进,反过来,NO 可以上调鸟苷酸环化酶、ADP 核苷环化酶和 MAP 激酶的表达。图中 SA. 水杨酸;GC. 鸟苷酸环化酶;MAPK. MAP 激酶。(引自 Igamberdiev,2005)

前面曾介绍,NO 对 TCA 循环中的顺乌头酸酶具有抑制作用,顺乌头酸酶活性被抑制后,就转变为一种 mRNA 结合蛋白,这种结合蛋白是一种铁调控蛋白(IPR),加强铁离子向细胞内的转运,引起胞内游离态二价铁离子浓度明显升高,Fe^{2+} 可促进 Fenton 反应,导致 ·OH 的产生,这对细胞壁的木质化具有一定意义。

结合前面所讲的血红蛋白/NO 在涝害感知中的作用以及植物激素在抗涝中的作用,我们把水涝胁迫引起的变化归结到图 4-12 中,它们共同作用,导致了植物的伸长生长、通气组织的形成和不定根的形成等生理适应。

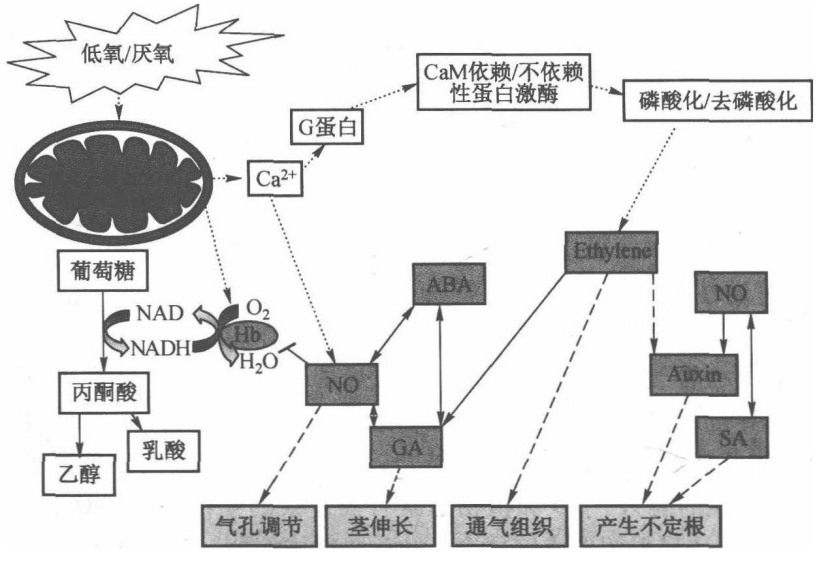


图 4-12 涝害引起植物的响应图解

(引自 Dat 等,2004)

(2) 水涝胁迫下的基因表达

① 乙醇脱氢酶基因 *Adh*1 和厌氧反应元件(ARE) Gerlach 等在玉米上获得第一个厌氧诱

导表达基因的 cDNA 克隆，为乙醇脱氢酶 *Adh*1 的 cDNA，全长 900 bp，C－端有 168 个氨基酸编码区，N－端有 364 bp 非编码区。Northern 杂交证明乙醇脱氢酶 mRNA 水平在厌氧下可增加 50 倍。此后许多学者又在不同植物上采用不同方法，克隆出一些厌氧表达基因。

植物细胞中存在两套乙醇脱氢酶基因：一套为组成型表达的 *Adh*2，另一种为厌氧诱导型表达的 *Adh*1、*ADH*1 和 *ADH*2 在植物中的表达有一定的组织特异性。Walker 等报道玉米 *Adh*1 基因中，位于起始密码子上游 －140 ~ －100 区域是厌氧诱导表达的关键序列，称为厌氧反应元件（anaerobic response element，ARE）。它有 2 个亚区，分别含有两个 GGTTT 结构和两个 GC 结构（GCC[G/C]C）。Dennis 等分析多种植物的 Adh 基因启动子区核苷酸的缺失与突变时发现，当 *Adh*1 中有多个 ARE 时，这一基因的厌氧诱导转录水平成倍提高；在组成型的 *Adh*2 中亦存在 ARE 序列，因而认为 ARE 是调节蛋白结合位点，有类似增强子的作用。他们进一步证明 ARE 近旁还存在一个决定转录的关键区，这是一个覆盖 ARE 的更长一些的启动子区（称 AREF），他决定调节蛋白的结合与厌氧诱导表达。而且认为后者可能是起对结合蛋白进行二次修饰（如磷酸化），或是促使第二种分子结合上去的作用，从而使调节蛋白复合体活化，开启转录。此后，在其它厌氧基因的启动子区也发现了类似 AREF 结构，这暗示厌氧基因诱导表达有某种共同的调节开关（王文泉和张福锁，2001）。

② 甘油醛 3－磷酸脱氢酶基因族（*Gpc*） 目前发现有 4 种甘油醛 3－磷酸脱氢酶（GAPDH）基因，它们分为组成型 *Gpc*1、*Gpc*2 与厌氧诱导型 *Gpc*3、*Gpc*4。在这一基础上，Dolferus 对拟南芥的厌氧诱导基因进行了研究，发现都存在组成型与诱导型两类同源基因。于是他提出一个厌氧呼吸代谢 O_2 调节模式，即糖酵解的相关酶都存有两套基因，一套是组成型表达，不受 O_2 的影响；另一套受 O_2 分压的控制，厌氧下启动，有氧下则关闭。这些基因表达有共同的调节基因，但这个调节基因是什么，目前尚不清楚。

③ 甲酸脱氢酶基因（*Fdh*） 甲酸脱氢酶（FDH）催化甲酸氧化为 CO_2，并伴随着还原力 NADH 的再生，是生物氧化的末端反应之一。Suzuki 等从大麦根中克隆出 Fdh 的 cDNA，并发现这一基因的表达受缺铁及厌氧双重诱导。大麦根中 Fdh mRNA 在缺铁 1 d 后产生，14 d 达最大值；恢复供铁后下降，7 d 后消失。缺氧下反应更快，12 h 出现，48h 达到最大值。Francs 认为甲酸代谢可能是存在于非光合组织中的一种尚未明确的代谢途径。

④ *Sub*1 基因 大多数水稻栽培品种淹没在水下一周后会死亡，但有些水稻栽培品种如 FR13A 具有较强的抗涝性能，它可淹没在水下两个星期而依然存活。美国加利福尼亚大学 Ronald等与菲律宾国际水稻研究所 Mackill 等合作研究发现，这种高抗涝性能形成的原因在于第 9 号染色体着丝粒附近的一个主要的数量性状位点（QTL）Submergence 1（Sub1），他们在 *Sub*1 位点鉴别出 3 个基因 *Sub*1*A*、*Sub*1*B* 和 *Sub*1*C*。并发现，*Sub*1*B* 和 *Sub*1*C* 在所有水稻栽培品种中一样，而 *Sub*1*A* 在不同品种中的表现是不同的。他们进一步鉴别出两个等位基因 *Sub*1*A* －1 和 *Sub*1*A* －2，其中 *Sub*1*A* －1 可增强水稻的抗洪涝性能。通过引入 *Sub*1*A* －1 基因，有望增加水稻的抗洪涝性能而不会降低产量（Xu 等，2006）。

有关淹水条件下克隆的植物基因及其编码蛋白总结于表 4－2。

表 4-2 植物厌氧表达基因的 cDNA 克隆(引自王文泉和张福锁,2001)

植物种类	基因	厌氧诱导产物
水稻 *Oryza sativa*	*pdc1/pdc2/pdc3*	丙酮酸脱羧酶(PDC)
	adh	乙醇脱氢酶(ADH)
拟南芥 *Arabidopsls thaliana*	*adh1/adh2*	乙醇脱氢酶(ADH)
	pdc1/pdc2	丙酮酸脱羧酶(PDC)
	AtHb1/AtHb2	非共生性血红蛋白(heme)
白菖蒲 *Acorus calamus*	*ald*	醛缩酶(ALD)
	pdc	PDC
	adh	ADH1
大麦 *Hordeum ulgare*	*ldh*	乳酸脱氢酶(LDH)
	fdh	甲酸脱氢酶(FDH)
玉米 *Zea mays*	*adh*	ADH
	sh1	蔗糖合成酶(SUC)
	ald	ALD
	gpc1	甘油醛三磷酸脱氢酶(GAPDH)
	phi1	葡萄糖磷酸异构酶(GPI)
	pdc1	PDC1
	eno	烯醇化酶(ENO)
	1005	木葡聚糖转葡糖苷酶(XET)

4.6 提高植物抗涝性的途径和措施

4.6.1 提高植物抗涝性的途径

(1) 增施矿肥

从理论上讲,水涝可以通过缺氧和淋溶使土壤中的矿质元素流失,因此在水涝前后,可以通过向土壤中施肥的方法补充土壤肥力,提高植物的抗涝性。实验发现,在涝害期间植物体内的氮素含量与植物的抗涝性成正相关,如耐涝的水稻品种 FR13A 比不耐涝的品种中的硝态氮含量高,因此在涝前向土壤施入硝态氮肥来提高植物的抗涝能力,而施加氨态氮仿佛对植物的生存不利(Yamada,1959)。另外,虽然有实验证明在水稻播种前向土壤中多施磷肥能促进水稻的高度、干重和碳水化合物含量,但在涝害发生时向水田中施加磷肥是绝对有害的,水中过多的磷会导致富营养化,促进蓝藻的繁殖,使蓝藻与植物争夺水中的 CO_2 和光,不利于植物光合。因此,最好是在涝害前或涝害后在土壤中施以氮肥和磷肥,提高植物的生存率,在涝害期间施肥不但无益,反而有害(Jackson 和 Ram,2003)。

(2) 培育抗涝品种

利用常规育种、组织培养、遗传工程等方法培育抗涝作物品种,也是有效的提高植物抗涝性的途径之一,目前在国内和国外,已培育出不少的抗涝作物品种,其中包括小麦、高粱、谷子、玉米以及一些树种。

4.6.2 防涝和治涝的措施

(1) 防涝

① 防止水土流失　在山区和坡地,可以封山造林、植树种草、滞渗径流、保持水土、防止山洪、减少涝区外围坡地的下泄径流以及防止渠系淤积。

② 修筑堤坝、湖泊、水库、排水沟等水利设施,提高防洪能力。

③ 深沟高畦栽培,加深田内"三沟",实行深沟高畦栽培,降低地下水位。

④ 台田栽培　台田是我国北部低洼和盐碱地区为了排水防涝、排水洗碱、抗御灾害的良好栽培方式,一般是在一定面积土地上,四周开排水沟,沟土翻叠堆铺于中部播种地段上,修筑较大的高畦,将植物以带状种在高畦上,可以避免种植地段积水,并有减轻盐害和改善通风透光的作用。

(2) 治涝

若水涝已经发生,治涝是首要问题,方法是:

① 及时排涝　加速排水对受涝的作物要及时排水抢救,争取作物的顶部及早露出地面,避免作物窒息死亡。同时,露出的部分能够进行一定的光合作用,制造有机物质,可以减轻呼吸的消耗,避免作物饥饿。

② 清洗植株　排水后,沾在茎叶上的泥沙也应及时冲洗掉,使叶片能够进行正常的光合作用,早日恢复生长。

③ 合理追肥　排水后尽早追施提苗肥,以补偿受涝时,淋溶流失的养分。如棉花涝后追施人畜粪 3 750 ~ 7 500 kg、尿素 75 ~ 90 kg、氯化钾 30 kg,促进棉苗快速生长。

④ 耙松土地　涝后土壤板结,透气性差,植物根系仍然得不到充足的 O_2,在这种情况下,必须进行中耕,耙松土地,增大土壤透气性,以利于作物恢复正常生长。

⑤ 改种耐涝作物　受涝轻的田地及时排水后,田中作物可以恢复生长,获得一定的产量,如果涝害较重,抢救无效,作物死亡,排水后土壤含水量还比较高,此时如果生长季节允许,可以改种一些耐涝作物,例如高粱、荞麦等。

⑥ 重视病虫害防治工作　灾后要切实加强田间调查和监测预报,重点防治水稻、蔬菜等作物的细菌性病害。

主要参考文献

1　陈鹭真,林鹏,王文卿. 红树植物淹水胁迫响应研究进展. 生态学报,2006,26(2):586 ~ 593.

2　利容千,王建波. 植物逆境细胞及生理学. 武汉:武汉大学出版社,2002.

3　王文泉,张福锁. 高等植物厌氧适应的生理及分子机制. 植物生理学通讯,2001,37(1):63 ~ 70.

4　魏和平,利容千. 淹水对玉米不定根形态结构和 ATP 酶活性的影响. 植物生态学报,2000,24(3):293 ~ 297.

5　魏和平,利容千,王建波. 淹水对玉米叶片细胞超微结构的影响. 植物学报,2000,42(8):811 ~ 817.

6　肖燕,红树植物木榄和白骨壤幼苗的解剖学特征对淹水胁迫的响应. 2007,硕士学位论文,厦门大学.

7　赵可夫,王韶唐. 作物抗性生理. 北京:农业出版社,1990.

8　Azuma T, Hirano T, Deki Y, *et al.* Involvement of the decrease in levels of abscisic acid in the internodal elongation of submerged floating rice. J. Plant Physiol, 1995, 146: 323 ~ 328.

9 Asai T, Stone J M, Heard J E, *et al.* Fumonisin B1-induced cell death in *Arabidopsis* protoplasts requires jasmonate-, ethylene-, and salicylate-dependent signaling pathways. Plant Cell, 2000, 12: 1823 ~ 1836.

10 Biemelt S, Keetman U, Albrecht G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. Plant Physiol, 1998, 116: 651 ~ 658.

11 Bradford K J. Effects of soil flooding on leaf gas exchange of tomato plants. Plant Physiol, 1983, 73: 475 ~ 479.

12 de Bruxelles G L, Peacock W J, Dennis E S, *et al.* Abscisic acid induces the alcohol dehydrogenase gene in *Arabidopsis*. Plant Physiol, 1996, 111: 381 ~ 391.

13 Buchanan B B, Cruissem W, Jones R L. Biochemistry & molecular biology of plants. American Society of Plant Physiologists, 2000.

14 Burrows W J, Carr D J. Effects of flooding the root system of sunflower plants on the cytokinin content of the xylem sap. Physiol. Plantarum, 1969, 22: 1105 ~ 1112.

15 Colmer T D, Flowers, T J, Munns, R. Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. Journal of Experimental Botany, 2006, 57: 1059 ~ 1078.

16 Dat J F, Capelli N, Folzer H, *et al.* Sensing and signaling during plant flooding. Plant Physiology and Biochemistry, 2004, 42: 273 ~ 282.

17 Denison S H. pH regulation of gene expression in fungi. Fungal Genet Biol, 2000, 29: 61 ~ 71.

18 Drew C M. Oxygen deficiency and root metabolism: Injury and acclimation under hypoxia and anoxia. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1997, 48: 223 ~ 250.

19 Else M A, Davies W J, Malone M, *et al.* A negative hydraulic message from oxygen-deficient roots of tomato plants? Influence of soil flooding on leaf water potential, leaf expansion, and synchrony between stomatal conductance and root hydraulic conductivity. Plant Physiol, 1995, 109: 1017 ~ 1024.

20 Ellis M H, Dennis E S, Peacock W J. *Arabidopsis* roots and shoots have different mechanisms for hypoxic stress tolerance. Plant Physiol, 1999, 119: 57 ~ 64.

21 Fry S C, Smith R C, Renwick K F, *et al.* Xyloglucan endotransglycosylase, a new wall-loosening enzyme activity from plants. Biochem J, 1992, 282: 821 ~ 828.

22 Hoffmann-Benning S, Kende H. On the role of abscisic acid and gibberellin in the regulation of growth of rice. Plant Physiol, 1992, 99: 1156 ~ 1161.

23 Hovenden M J, Allaway W G. Horizontal structures on pneumatophores of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh—a new site of oxygen conductance. Ann. Bot, 1994, 73: 377 ~ 383.

24 Huang B, Johnson T W, Nesmith D S, et. al. Nutrient accumulation and distribution of wheat genotypes in response to waterlogging and nutrient supply. Plant and Soil, 1995, 173: 47 ~ 54.

25 Hwang S Y, VanToai T T. Abscisic acid induces anaerobiosis tolerance in corn. Plant Physiol, 1991, 97: 593 ~ 597.

26 Igamberdiev A U, Baron K, Manac' h-Little N, *et al.* The haemoglobin/nitric oxide cycle: Involvement in flooding stress and effects on hormone signalling. Annals of Botany, 2005, 96: 557 ~ 564.

27 Jackson M B, Ram P C. Physiological and molecular basis of susceptibility and tolerance of rice plants to complete submergence. Ann Bot, 2003, 91: 227 ~ 241.

28 Johnson J, Cobb B G, Drew M C. Hypoxic induction of anoxia tolerance in root tips of *Zea mays*. Plant Physiol, 1989, 91: 837 ~ 841.

29 Klok E J, Wilson I W, Wilson D, *et al.* Expression profile analysis of the low-oxygen response in *Arabidopsis* root cultures. Plant Cell, 2002, 14: 2481 ~ 2494.

30 Kludze H K, Delaune R D, Patrick W H. Aerenchyma formation and methane and oxygen exchange in rice. Soil

Sci Soc Am J,1993,57:386 ~ 391.

31 Kuan T L, Erwin D C. Predisposition effect of water saturation of soil on phytophathora root rot of alfalfa. Phytopathol,1980,70(10):981 ~ 986.

32 Liao C T, Lin C H. Effect of flooding stress on photosynthetic activities of *Momordica charantia*. Plant Physiol. Biochem,1994,32:479 ~ 485.

33 Malik A I,English J P,Colmer T D. Tolerance of *Hordeum marinum* accessions to O_2 deficiency,salinity and these stresses combined. Annual of Botany,2009,103(2):237 ~ 248.

34 Monk L S,Fagerstedt K V,Crawford R M M. Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an anti-oxidant in physiological stress. Physiol Plant,1989,76:456 ~ 459.

35 Mujer C V,Rumpho M E,Lin J J,*et al*. Constitutive and inducible aerobic and anaerobic stress proteins in the Echinochloa complex and rice. Plant Physiol,1993,101:217 ~ 226.

36 Newman D S,Smit B A. The influence of leaf water status and ABA on leaf growth and stomata of *Phaseolus vulgaris* with hypoxic roots. J Exp Bot,1991,42:1499 ~ 1506.

37 Olson D C,Oetiker J H,Yang S F. Analysis of LE-AC53,a 1-amincyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expressed during flooding in the roots of tomato plants. J Biol Chem,1995,270:14056 ~ 14061.

38 Pezeshki S R. Wetland plant responses to soil flooding. Environmental and Experimental Botany,2001,46:299 ~ 312.

39 Pezeshki S R,DeLaune R D,Anderson P H. Effect of flooding on elemental uptake and biomass allocation in seedlings of three bottomland tree species. J. Plant Nutrition 1999,22:1481 ~ 1494.

40 Ponnamperuma F N. Effects of flooding on soils. //Kozlowski T T. Flooding and Plant Growth. Orlando:Academic Press,1984,1 ~ 44.

41 Ponnamperuma F N. The chemistry of submerged soil. Adv. Agron,1972,24:29 ~ 96.

42 Reid D M,Cpozier A,Harvey B M R. The effects of flooding on the export of gibberellins from the root to the shoot. Planta,1969,89:376 ~ 379.

43 Roberts J K M,Callis J,jardetzky O,*et al*. Cytoplasmic acidosis as a determinant of flooding in tolerance in plants. Proc Natl Acad Sci USA,1984,81:6029 ~ 6033.

44 Russell D A,Sachs M M. Differential expression and sequence analysis of the maize glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene family. The Plant cell,1989,1:793 ~ 803.

45 Saab I N,Sachs M M. A flooding induced xyloglucan endo-transglycosylase homolog in maize is responsive to ethylene and associated with aerenchyma. Plant Physiol,1996,112:385 ~ 391.

46 Sachs M M,Freeling M,Okimoto R. The anaerobic proteins of maize. Cell,1980,20:761 ~ 767.

47 Sena Gomes A R,Kozlowski T T. Physiological and growth responses to flooding of seedlings of *Hevea brasiliensis*. Biotropica,1988,20:286 ~ 293.

48 Setter T,Laureles E. The beneficial effect of reduced elongation growth on submergence tolerance of rice. Journal of Experimental Botany,1996,47:1551 ~ 1559.

49 Shiono K,Takahashi H,Colmer T D,*et al*. Role of ethylene in acclimations to promote oxygen transport in roots of plants in waterlogged soils. Plant Science,2008,175:52 ~ 58.

50 Smith M W,Ager P L. Effect of soil flooding on leaf gas exchange of seedling pecan trees. HortSci,1988,23:370 ~ 372.

51 Summers J E,Jacksonm B. Anaerobic promotion of stem extension in *Potamogeton pectinatus*. Roles for carbon dioxide,acidification and hormones. Physiologia Plantarum,1996,96:615 ~ 622.

52 Smulders M J M,Horton R F. Ethylene promotes elongation growth and auxin promotes radial growth in *Ranun-*

culus sceleratus petioles. Plant Physiol, 1991, 96: 806 ~ 811.

53 Subbaiah C C, Zhang J, Sachs M M. Involvement of intracellular calcium in anaerobic gene expression and survival of maize seedlings. Plant Physiol, 1994, 105: 369 ~ 376.

54 Suzuki K, Itai R, Suzuki K, *et al.* Formate dehydrogenate, and enzyme of anaerobic metabolism is induced by iron deficiency in barley roots. Plant Physiol, 1998, 116: 725 ~ 732.

55 Taiz L, Zeiger E. Plant Physiology. Third Edition. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. 2002.

56 Tanaka F, Ono S, Hayasaka T. Identification and evaluation of rice root elongation inhibitors in flooded soils with added wheat straw. Soil Sci Plant Nutr, 1990, 36(1): 97 ~ 103.

57 Tang Z C, Kozlowski T T. Some physiological and growth responses of *Betula papyrifera* seedlings to flooding. Physiol Plant, 1982, 55: 415 ~ 420.

58 Tournaire-Roux C, Sutka M, Javot H, *et al.* Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. Nature, 2003, 425: 393 ~ 397.

59 Visser E, Cohen J D, Barendse G, *et al.* An ethylene-mediated increase in sensitivity to auxin induces adventitious root formation in flooded *Rumex palustris* Sm. Plant Physiol, 1996, 112: 1687 ~ 1692.

60 Voesenek L A C J, Benschop J J, Bou J, *et al.* Interactions between plant hormones regulate submergence-induced shoot elongation in the flooding-tolerant dicot *Rumex palustris*. Ann Bot, 2003, 91: 205 ~ 211.

61 Vu C V, Yelenosky G. Photosynthetic responses of citrus trees to soil flooding. Physiol. Plant, 1991, 81: 7 ~ 14.

62 Wample R L, Davis R W. Effect of flooding on starch accumulation in chloroplasts of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Plant Physiol, 1983, 73: 195 ~ 198.

63 Wang G L, Semenzy G L. Characterization of hypoxia-inducible factor 1 and regulation of DNA binding activity by hypoxia. J Biol Chem, 1993, 268: 21513 ~ 21518.

64 Xia J H, Saglio P H, Roberts J K M. Nucleotide levels does critically determine survival of maize root tips acclimated to a lower oxygen environment. Plant Physiol, 1995, 108: 589 ~ 595.

65 Xu K, Xu X, Fukao T, *et al.* Sub1A is an ethylene-response-factor-like gene that confers submergence tolerance to rice. Nature, 2006, 442(7103): 705 ~ 708.

66 Yamamoto F, Kozlowski T T. Effects of flooding, tilting of stems, and ethrel application on growth, stem anatomy, and ethylene production of *Acer platanoides* seedlings. Scand. J. For. Res, 1987, 2: 141 ~ 156.

67 Yamamoto F, Kozlowski T T. Regulation by auxin and ethylene of responses of *Acer negundo* seedlings to flooding of soil. Environ. Exp. Bot, 1987, 27: 329 ~ 340.

68 Youssef T, Saenger P. Anatomical adaptive strategies to flooding and rhizosphere oxidation in mangrove seedlings. Aust J Bot, 1996, 44: 297 ~ 313.

69 Zhang J, Van Toai T, Huynh L, *et al.* Development of flooding-tolerant *Arabidopsis thaliana* by autoregulated cytokinin production. Mol. Breed, 2000, 6: 135 ~ 144.

思考题

1. 涝害为什么会引起植物缺氧?
2. 涝害对土壤的物理化学性质会产生什么影响?
3. 涝害下植物通气组织产生的机制是什么?
4. 植物通过哪些代谢的调节提高自身的耐涝性?
5. 当前植物的抗涝基因工程有何进展?

5 低温逆境植物生物学

温度是限制植物产量、生长发育和地理分布的重要环境因子。当植物遭受温度逆境胁迫时，最先受到伤害的部位是生物膜系统。温度逆境胁迫包括低温胁迫和高温胁迫。

5.1 冷害与冷害机理

植物在生长发育过程中要应对多种非生物逆境胁迫。低温胁迫是植物经常遇到的一种灾害，它不仅使植物生长受到抑制，严重时还会造成植株死亡。一些热带和亚热带植物，如番茄、黄瓜、甜椒、水稻、棉花和玉米等温度稍微低于其最适生长温度，就会发生低温伤害(Lyons，1973)。很多植物不能忍受 0 ℃以上的低温，这种 0 ℃以上低温对植物的危害被称作冷害(chilling injury)。而植物对零上低温的适应能力叫做抗冷性(chilling resistance)。

在我国，冷害常发生于早春和晚秋季节，主要危害发生在作物的苗期和籽粒(或果实)成熟期。如水稻、棉花、玉米和春播蔬菜的幼苗常遇到冰点以上低温的危害，造成烂籽、死苗或僵苗不发。正在长叶或开花的果树遇到冷害时会引起大量落花，使结实率降低。近年来我国保护地栽培面积增加，低温对喜温蔬菜生产的影响日益突出。研究植物抗低温胁迫的生理及分子机制，具有重要的理论和实践意义。

根据植物对冷害的反应速度，可将冷害分为直接伤害与间接伤害两类。直接伤害是指植物受低温影响后几小时，至多在一天之内即出现伤斑，说明这种影响已侵入细胞内，直接破坏原生质活性。间接伤害是指低温引起代谢失调而造成的伤害。低温胁迫初期植株形态上表现正常，至少要在五、六天后才出现组织柔软、萎蔫，而这些变化是代谢失调后生理生化的缓慢变化造成的，并不是低温直接造成的。低温胁迫通过干扰或破坏细胞结构和生理生化代谢等对植物产生伤害。

5.1.1 冷害对细胞结构的影响

冷害对植物的影响在外部形态发生可见症状之前，细胞结构已发生了剧烈变化。冷害对植物的伤害与植物组织的生理年龄、生理状况以及对冷害的相对敏感性有关。在相同冷害条件下，幼嫩组织器官比老的器官更易受伤害，而冷敏感植物较冷不敏感植物受害较严重。除此之外，冷害还与低温的程度和持续时间直接有关。温度低，持续时间长，植物受害严重，反之则轻。例如黄瓜、西瓜、番茄、玉米等作物在生长前期遭受寒潮袭击时，其绿色组织被破坏，分枝出芽受阻，生

长迟缓或停止。如果受害时间长,则出现局部伤亡,甚至植株死亡。这是由于冷害伤害了细胞的正常功能和结构,特别是细胞质膜和细胞器膜系统遭到破坏,或进一步导致代谢发生紊乱。冷害引起叶绿体变化的最初症状是:叶绿体膨胀;类囊体腔膨大,并且变形,改变排列方向或弯曲;淀粉粒体积变小,数量减少,同时,其被膜变成许多串联的小囊泡。在继续延长低温胁迫条件下,拟脂颗粒发生积累,基粒垛叠片层消失,基质变成暗黑,被膜破裂,其中的内含物与细胞质相混合。低温胁迫下,植物膜脂过氧化物产物**丙二醛**(malondialdehyde,MDA)大量积累,会造成膜透性上升,电解质外渗,导致细胞膜系统的严重损伤,可引发植物代谢失调。0 ℃的低温胁迫后,相思树(*Acacia* spp.)叶绿体膜结构遭受破坏,叶片细胞结构受到严重破坏,部分细胞出现空泡化现象;线粒体完全被破坏,结构消失(刘洪波等,2005)。即使在自然条件下,随冬季的来临,栀子的叶绿体也会发生显著变化(图 5-1):淀粉粒完全消失,拟脂颗粒大量增加,基粒片层开始松散,排列紊乱,间质片层排列不规则,方向发生变化,即从平行排列变成纵、横、斜多向排列,有些片层融合而变得模糊不清或完全消失。在 0~2 ℃冷害温度下,哈密瓜的表皮细胞下数层薄壁细胞首先发生质壁分离,细胞扁平化,从而导致表皮组织下陷,冷害症状的起始部位在气孔处。冷害温度破坏细胞原生质膜、液泡膜及胞间连丝。叶绿体对低温比较敏感,冷害后期,叶绿体已全部解体(许玲等,1990)。一般说来,线粒体超微结构在冷胁迫下表现较高的稳定性,它的改变一般在叶绿体变化之后,其表现的主要症状是膨胀、内嵴腔扩大和空泡化,严重时内嵴被破坏。细胞微管骨架对冷胁迫表现很高的敏感性,用 1~4 ℃低温处理时,在数十分钟内即被破坏。在冷胁迫下液泡液迅速发生酸化,也使液泡膜 H^+-ATPase 迅速钝化。许多的研究结果显示,液泡膜结构的破坏是寒害致死的临界线。在严重的冷害中,核发生了变化,染色质发生凝聚。因此,不仅细胞功能受到干扰,结构和组织方面也常遭到破坏,最终在形态上出现相应的损伤。冷害可以在种子萌发、植株生长、坐果、产量和品质形成等诸多阶段对植物的生长发育造成不利的影响。因此,冷害是很多地区限制农业生产的主要因素之一。

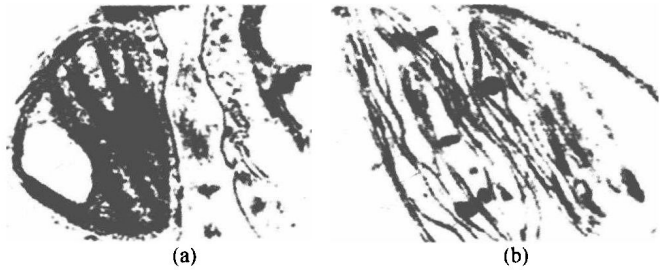


图 5-1 栀子叶片九月超微结构良好的叶绿体(a)和一月叶片超微结构变化的叶绿体(b)

(引自严寒静和谈锋,2006)

5.1.2 冷害对植物生理生化的影响

(1) 水分代谢失衡

冷害影响根系的生命活动,根生长减慢,吸收面积减少,细胞原生质黏性增加,流动性减慢,呼吸减弱,供能不足,结果使植物体内矿质元素的吸收与分配受到限制,同时失水大于吸水,水分平衡遭到破坏,导致植株萎蔫甚至干枯。

(2) 光合

低温使叶绿素生物合成受阻,冷害叶片出现缺绿或黄化现象;各种光合酶活性受到抑制,如果伴有阴雨、光照不足则光合速率下降更多。许多早期的研究认为低温引起的气孔关闭是导致净光合速率降低的最初原因(Crookston 等,1974;Ku 等,1978)。气孔关闭降低了细胞间隙 CO_2 浓度(Intercellular CO_2 concentration,Ci),从而降低了光合作用。

低温胁迫能够通过光抑制而影响植物的光合过程(Aro 等,1993)。低温条件下植物叶片光合活性的下降与低温(含光照或黑暗)对叶绿体及 PSⅡ反应中心的影响密切相关。当绿色植物光合机构吸收的光能超过其所利用的量时,就会发生光合效率和光合功能的降低,这种现象被称为光抑制,主要表现为碳同化的光量子效率、PSⅡ光化学效率以及饱和光强下光合速率的降低(Powles,1984)。低温等逆境条件下植物利用光能的能力降低,从而引起或加剧光抑制(Long 等,1983)。当温度降至引起冷害的临界温度时,光合作用明显降低(Wise 和 Naylor,1987)。Hodgson 等(1989)将植物在低温下发生的光抑制称为低温诱导光抑制(chill-induced photoinhibition)或低温光抑制(chill-temperature photoinhibition),严重的低温光抑制还会导致光氧化破坏。CO_2 同化或光合放氧的量子效率(ΦCO_2 或 ΦO_2)、叶绿素 a 可变荧光与最大荧光比值(Fv/Fm)的下降常被作为衡量光抑制程度的指标(Powles,1984)。光能过剩条件下,PSⅡ的破坏可以引起 Fv/Fm 的降低,PSⅡ通过非光化学猝灭过程耗散过剩光能也可引起 Fv/Fm 的下降(Demmig-Adams,1990)。

有研究表明,植物在强光下发生光抑制,主要部位在 PSⅡ(Barber,1995)(图 5-2)。PSⅡ光抑制的特征是 PSⅡ量子效率的降低和 PSⅡ反应中心 D_1 蛋白的降解。PSⅡ反应中心的光破坏可分别由 PSⅡ供体侧和受体侧光抑制引发。在强光下受体侧的去镁叶绿素(Pheo)来不及将电子传递给 Q_A 造成还原型 Q_A 的积累,促使 $P680^+ \cdot$ Pheo 离子对发生电荷重组,产生三线态 P680($^3P680$),$^3P680$ 与氧作用形成单线态氧($^1O_2$)。如果供体侧的水氧化受阻,Z 不能很快将电子传递给 $P680^+$,延长了 $P680^+$ 的寿命。$^1O_2$ 和 $P680^+$ 都是强氧化剂,如果不能及时清除掉,都可以氧化破坏附近的胡萝卜素、叶绿素和 D_1 蛋白等,从而分别引起受体侧光抑制和供体侧光抑制。PSⅡ受体侧的光抑制被认为是 PSⅡ电子传递及 D_1 蛋白降解的主要机制(Aro 等,1993)。低温虽能加剧光抑制,但不一定引起 D_1 蛋白的降解,解除低温后 D_1 蛋白的降解反而加快。这是由于低温降低了受损 D_1 蛋白的降解速率,温度回升后 D_1 蛋白的水解加快。Aro 等(1993)的实验表明,低温强光下无论是活体还是离体都发生了 PSⅡ的光抑制,但却未发现 D_1 蛋白的降解。即使在黑暗条件下,低温也同样会对叶绿体造成伤害。Terashima 等(1989a)发现低温(5 ℃)暗处理 48 h 后黄瓜类囊体膜的电子传递活性大幅度降低,光系统Ⅱ(PSⅡ)的氧化侧,即水裂解部位失活。而加入 PSⅡ的电子供体联苯-碳二酰肼(DPC)后,2,6-二氯酚吲哚乙酸(DCIP)的还原活性高达对照的 86%。Shen 等(1990)则将低温暗处理后放氧活性的失活归结为 PSⅡ外周蛋白的降解,引发与 PSⅡ复合体相连的锰簇丢失。低温暗处理光合功能的失活是可逆的。将低温处理叶片放于室温和中等光强下,放氧活性的恢复只需 30 min(Terashima 等,1989b)。低温通过降低植物对激发能的利用,从而造成激发压力的增加来加剧 PSⅡ的氧化破坏。Greer 等(1986)曾指出,光抑制对 PSⅡ的破坏和修复是同时发生的,光抑制的程度取决于 PSⅡ损伤与修复的速率,PSⅡ的修复需要 D_1 蛋白的重新合成和插入。Allen 和 Ort(2001)认为,低温降低了膜的流动性,从而影响了受损的 D_1 蛋白的扩散速率,阻碍了新合成的 D_1 蛋白的插入。D_1 蛋白损伤——修复循环的正常更新速率受到低温的干扰,PSⅡ的光破坏会更加明显。在某种意义上,可以用低温加剧了光

抑制来解释低温对光合机构的破坏。

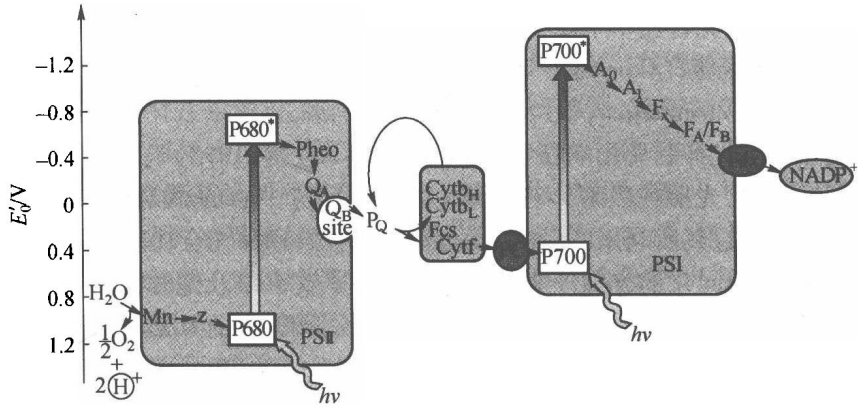


图 5-2　光合机构的电子传递途径

由于 PSⅡ的叶绿素荧光分析技术的发展以及 D_1 蛋白的快速周转(Aro 等,1993),使人们对光抑制的研究主要集中在 PSⅡ,并认为 PSⅡ是光抑制的主要位点(Barber 和 Andersson,1992;Aro 等,1993)。有人报道高等植物活体内存在 PSⅠ选择性抑制活性,即在低温条件下 PSⅠ对光更敏感,比 PSⅡ更易发生光抑制(Terashima 等,1994;Havaux 和 Davaud,1994;Sonoike 和 Terashima,1994)。从此人们对 PSⅠ光抑制的相关研究才逐渐重视起来,认识到 PSⅠ光抑制的生理意义,尤其是对低温下 PSⅠ的光抑制更加重视。PSⅠ的光抑制大体分三个步骤:①PSⅠ受体侧的失活;②反应中心色素的破坏;③PSⅠ反应中心与色素相连的亚单位多肽的降解(Sonoike 和 Terashima,1994)。Sonoike(1996b)认为诱导高等植物叶片 PSⅠ光抑制需具备以下几个条件:①低温(0 ~ 10 ℃);②O_2;③弱光(约 100 μmol $m^{-2}s^{-1}$);④相对长的时间(约 5 h)处理;⑤冷敏感植物(如黄瓜等);⑥从 PSⅡ发出的电子流正常。目前,研究 PSⅠ光抑制的手段主要有 3 个:①PSⅠ颗粒电子传递活性的测定(陈国祥等,2000);②P700 在 820 nm 或 830 nm 的光吸收(Tjus 等,1998);③PSⅠ颗粒多肽组分分析(陈国祥等,2000;Tjus 等,1998)。PSⅠ反应中心复合体包括反应中心 P700、电子受体和捕光天线 3 部分,它们都结合在蛋白亚基上(叶济宇,1998;Golbeck,1987,1992)(图 5-3)。复合体由 PsaA 和 PsaB 两个大亚基以及 PsaC,PsaD,PsaE,PsaH,PsaI 等多个小亚基组成。反应中心色素 P700、原初电子受体 A_0、A_1 和 F_X 都位于大亚基上,PsaC 是铁硫中心 F_B/F_A 的所在部位;PSⅠ的电子供体**质体蓝素**(plastocyanin,PC)和电子受体**铁氧还蛋白**(ferredoxin,Fd)通过特殊蛋白亚基的静电引力与 PSⅠ反应中心相连接,PsaD 和 PsaE 是 Fd 与 PSⅠ的连接物,而 PsaF 则是 PC 与 PSⅠ的连接物;PsaH 可能是能量状态转换所必需的,Lunde 等(2000)用拟南芥 PsaH 的突变体进行研究表明,缺乏 PsaH 亚基的突变体,PSⅡ捕光色素复合体(LHCⅡ)能发生磷酸化,但不能与 PSⅠ结合,不能进行状态转换;PsaI 和 PsaJ 可能分别与 PsaB 和 PsaA 单独结合,但尚缺乏有力证据,且对其功能也不清楚;另外,PsaG,PsaL,PsaM 和 PsaN 等多个小分子多肽的功能也有待进一步研究。捕光天线是由不同的捕光色素蛋白复合体 LHCI 组成(叶济宇,1998;Golbeck,1987,1992)。PSⅠ的电子传递组分包括一个叶绿素原初电子供体 P700、一个叶绿素原初电子受体 A_0、一个醌作为中间电子受体 A_1 和三个铁硫中心 F_X,F_B 和 F_A。

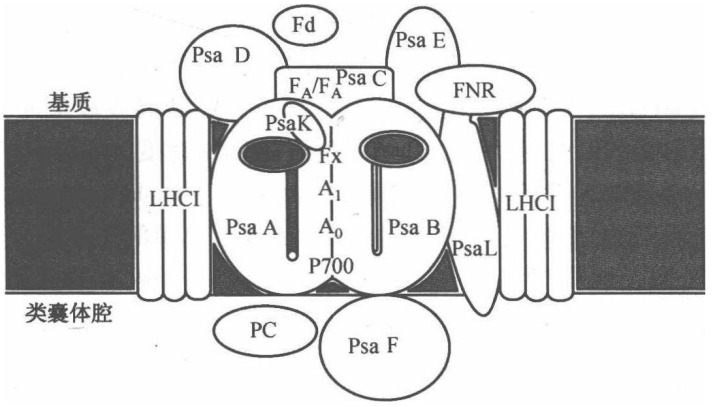


图 5-3 PSI 复合体示意图

(引自李新国等,2002)

低温弱光处理 5 h 后,黄瓜叶片的 PSI 最大量子产额降低了 70% ~80%,而 PSⅡ的最大量子产额降低不足 20%(Terashima 等,1994)。这一结果表明在低温弱光下 PSI 是主要的光抑制部位。在藻类细胞和高等植物的叶片,类囊体膜及纯化的 PSI 颗粒中均能观察到 PSI 的光抑制。低温胁迫下,PSI 是马铃薯叶片(Havaux 和 Davaud,1994)和黄瓜叶片(Terashima 等,1994)电子传递的限速步骤,PSI 发生光抑制时,两种植物都需 O_2的参与。在缺氧条件下还没有发现这种类型的光抑制。Gerber 和 Burris(1981)的试验表明,强光处理硅藻可引起氧化态的 P700 水平下降,而且光合速率的下降($^{14}CO_2$标记)大于氧化态 P700 的下降幅度,表明 PSI 的某些组分可能发生严重失活。Inoue 等(1986)认为,有氧条件下,光抑制的位点是 PSI 的三个铁硫中心,而铁硫中心能限制 $NADP^+$的光还原;相反,在强还原条件下,随着 $NADP^+$光还原程度的下降,铁硫中心、维生素 K(V_K)和 P700 的水平则没有改变,表明此时光抑制位点可能位于 A_0和 F_X之间(Inoue 等,1986),PSI 受体端的 A_0与铁硫中心 F_X之间的电子传递受阻(Sonoike,1995)。有实验认为,在 PSI 受害过程中,P700 受体侧的 Fe-S 中心最先受到伤害,然后是 P700 本身(Sonoike 和 Terashima,1994;Sonoike 等,1995),同时 *psa*B 基因产物也出现降解(Sonoike 和 Terashima,1994;Sonoike,1996a;Sonoike 等,1997),*psa*B 基因产物的降解可能与活性氧的产生有关(Sonoike,1996a)。

(3) 呼吸

冷害使植物的呼吸速率大起大落,即先升高后降低,冷害初期呼吸作用增强与低温下淀粉水解导致呼吸底物增多有关。温度降到相变温度之后,线粒体发生膜脂相变,氧化磷酸化解耦联,有氧呼吸受到抑制,无氧呼吸相对增强,一方面因产生的 ATP 少而使物质消耗过快,另一方面还会积累大量乙醛、乙醇等有毒物质。

(4) 酶

在光合作用研究过程中,人们逐渐认识到叶绿体基质中的几种酶以复杂的方式运转着,并且在某些条件下它们将是限制光合作用的最初原因。低温使植物体内一些酶活性降低,进而导致代谢变化。例如,细胞质膜和液泡膜 H^+-ATP 酶具有控制胞内 pH,为离子及分子运输提供跨膜的质子以及电化学势梯度。冷胁迫时,质膜 H^+-ATP 酶活性下降,造成膜的去极化,使钙通道打开,质外体 Ca^{2+}进入细胞,胞质内 H^+和 Ca^{2+}的稳衡被打破,影响细胞对胁迫信号的感受,造成生理代谢紊乱。植物受冷害后,水解酶类活性常常高于合成酶类活性,酶促反应平衡失调,物质分

解加速,表现为蛋白质含量减少,可溶性氮化物含量增加,淀粉含量降低,可溶糖含量增加;活性氧清除系统活性下降,活性氧积累,引发膜脂过氧化伤害。内源乙烯和 ABA 含量明显增加。细胞中存在敏感酶,它们在引起冷害的临界温度下会发生结构、功能或数量的变化。例如,C_4植物光合过程中的关键酶丙酮酸磷酸双激酶在低温条件下由四聚体变为二聚体;另一种变化是酶构象的变化,如**核酮糖 -1,5 - 二磷酸羧化/加氧酶**(ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco)是控制植物光合碳代谢和光呼吸的关键酶,是光合作用的限速酶。在低温条件下发生构象改变,疏水基团外露,导致酶功能丧失。在许多的研究中发现,植物经低温黑暗或低温光照处理后,光合作用的降低是由 Rubisco 活性的丧失引起的,由此推测低温损伤了 Rubisco 本身。低温在降低 Rubisco 羧化活性的同时,也应伴随其氧化活性的降低,从而抑制光呼吸(Allen 和 Ort,2001)。

5.1.3 冷害机理

(1) 膜相变

低温引起的膜系统受损是植物低温伤害的重要原因。早在 1970 年,Lyons 和 Raison 就提出低温胁迫是通过膜相变来影响生物膜的透性,后来大量实验证明植物的耐冷性与膜脂的组分、结构以及膜脂中不饱和脂肪酸的含量有关(Murata 和 Los,1997;Sakurai 等,2003)。低温对冷敏感植物的原初伤害是导致膜相变,膜由液晶相变为凝胶相,膜上出现孔道或龟裂,膜透性增大,膜结合酶的活化能增高,酶促反应失衡,代谢紊乱(Raison 和 Chapman,1976)。研究表明,不同植物膜相变温度不同,即使同种植物在不同发育阶段及生长发育过程所经历的温度等环境不同,膜相变温度也不同。膜相变温度的高低主要与膜脂中脂肪酸的链长和不饱和键的多少有关。膜相变温度随脂肪酸链的加长而增加,随不饱和脂肪酸如油酸、亚油酸、亚麻酸等所占比例的增加而降低。也就是说,不饱和脂肪酸越多,膜相变温度越低,越耐低温胁迫。温带植物比热带植物耐低温的原因之一,就是膜脂不饱和脂肪酸的含量较高。同一种植物,抗寒性强的品种不饱和脂肪酸的含量也高于抗寒性弱的品种。因此,改变脂肪酸不饱和程度可改变植物的冷敏感性(Nishida 和 Murata,1996)。在低温胁迫过程中,光合膜富含长链不饱和脂肪酸的三烯脂肪酸对稳定叶绿体类囊体膜,保持光合机构的活性具有十分重要的作用(Routaboul 等,2000)。有人提出,虽然**磷脂酰甘油**(phosphatidyl glycerol,PG)只占膜脂的 3% ~5%,却是决定膜相变的主要因素,叶片 PG 脂肪酸饱和程度与植物的冷敏感性呈正相关。冷敏感植物叶片 PG 分子饱和度一般比抗冷植物的高。改变番茄叶片中 PG 不饱和脂肪酸的含量能够提高植物的抗冷性(Sui 等,2007)。因此,低温胁迫下膜脂组分的变化与植物抗冷性密切相关。

(2) 蛋白质变性

低温引起膜相变的同时,可以引起膜蛋白的构象发生变化,膜蛋白的功能受膜脂分子排列的有序性的影响。低温胁迫下,类囊体膜发生膜脂相变,凝胶相中脂分子有序性较强,蛋白质分子的活动受到抑制,酶活性也受到影响(Lyons,1973;曾乃燕等,2000;林多等,2001)。一种可能是蛋白在催化功能和结构功能上失活,另一种可能是蛋白质被解离成亚单位,如番茄的 PEPcase 在低温下就被解离成 4 个亚单位。低温胁迫下,冷敏感植物类囊体膜上由与类囊体膜紧密相连的 CF0 与向外突出至膜的外表面的 CF1 紧密结合构成的叶绿体耦联因子呈解耦联状态(Peeler 和 Naylor,1988;Terashima 等,1989a;Terashima 等,1989b;Terashima 等,1991a)。同时,研究表明,类

囊体膜的解耦联是可逆的,在 25 ℃下不到 15 min 就能恢复(Terashima 等,1991b)。

(3) 活性氧破坏

关于植物活性氧自由基代谢参考本书第一章的 1.3.2 部分。活性氧指超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)和羟基(-OH)等。如果植物不能及时清除这些自由基就会引起膜脂过氧化,导致 DNA 的破坏和蛋白质的变性,进而导致细胞的伤害乃至死亡。研究表明,低温胁迫下,植物膜脂过氧化物丙二醛(MDA)大量积累,会使膜系统严重受损。植物体内的抗氧化防御系统包括酶促和非酶促两类。酶促防御系统包括:**超氧化物歧化酶**(superoxide dismutase,SOD)、**过氧化氢酶**(catalase,CAT)、**过氧化物酶**(peroxidase,POD)等;非酶促防御系统包括**谷胱甘肽**(glutathione,GSH)、**抗坏血酸**(ascorbic acid,ASA)、维生素 E、细胞色素 f、铁氧还蛋白、甘露醇、类胡萝卜素等。在一定的低温范围内,植物体内自由基的产生和清除之间基本可以保持平衡。当温度继续下降或低温持续时间长,活性氧自由基就会明显增加,清除剂含量下降,导致自由基积累,造成膜脂过氧化。

叶绿体是活性氧产生的主要器官之一。植物体即使在正常的条件下,光合器官除产生 O_2 外,也能生成活性氧。低温胁迫下,活性氧的产生与 PSI 的光抑制密切相关。活性氧的破坏作用可能是造成 PSI 光抑制的原因。对冷敏感植物来说,低温弱光下引起 PSI 反应中心伤害可能是 PSI 产生的过氧化物和/或单线态氧造成的。试验表明,当 PSI 受体侧组分完全被还原后,$P700^+/A_0^-$ 或 $P700^+/A_1^-$ 重组产生三线态 P700,这种三线态的叶绿素也可与分子氧反应生成单线态氧,从而引起 PSI 的光抑制伤害。有研究认为叶绿体过氧化物产生位点是 PSI 还原侧,而清除活性氧的酶,如超氧化物歧化酶(SOD)和**抗坏血酸过氧化物酶**(ascorbate peroxidase,APX)也位于或接近 PSI 反应中心(Sui 等,2007)。

引发光氧化损害的两类活性氧是超氧阴离子 O_2^- 和单线态氧 $^1O_2$。O_2^- 主要由 Mehler 反应产生,$^1O_2$ 则由 O_2 与三线态叶绿素或三线态 $P680^+$ 作用产生的。当逆境胁迫加重时,如果依赖叶黄素循环的热耗散不能及时耗散掉过剩能量,或光合碳同化受阻,就会导致过剩激发能传递给 O_2 产生活性氧。活性氧的积累会导致细胞膜系统的膜质过氧化伤害,造成膜结构破坏和功能丧失,结果表现为膜透性增大和离子泄漏。严重时会引起抗氧化剂的降解和色素的漂白,称之为光氧化。近年来有关各种逆境胁迫因子对植物的伤害,特别是低温光胁迫的研究,都表明主要是由于逆境条件下产生的大量活性氧所致。

(4) Ca^{2+} 稳态破坏

冷敏感植物在遭受冷害时,Ca^{2+} 迅速进入细胞质和细胞核并达到很高的水平。在连续的低温胁迫时,细胞内 Ca^{2+} 继续呈现高水平,没有降低的趋势,并且伴随质膜 Ca^{2+}-ATPase 活性的降低,甚至完全丧失活性,说明冷敏感植物在低温胁迫时,细胞内浓度不能恢复到较低的静息态的水平。然而,抗寒植物在冷胁迫中细胞内 Ca^{2+} 水平的增加只是暂时的,它们在完成信使作用后就恢复到正常水平。Ca^{2+} 水平暂时增加的过程中,可能通过激活某些蛋白激酶,使相应的蛋白质磷酸化,进而诱发抗冻基因表达(简令成和王红,2002)。例如,在连续低温作用下,抗寒性较强的冬小麦胞内 Ca^{2+} 的荧光值在升高后又逐渐恢复至最初水平,说明此时细胞调节胞质 Ca^{2+} 水平的机制还在发挥作用,具有将增加的 Ca^{2+} 排到胞外或钙库中的能力。但随后继续降温时,胞质 Ca^{2+} 在维持短暂的低水平后继续增高并不再恢复,暗示在零下低温时细胞对 Ca^{2+} 调节能力的丧失。而抗寒性较弱的春小麦细胞胞内荧光值在温度降至 2 ℃时不降低,而是持续增高,暗示细

胞在2 ℃下已受伤害,失去了对 Ca^{2+} 的调节能力(刘炜,2001)。

总之,植物细胞接受低温信号后,迅速增加细胞质 Ca^{2+} 水平,从而 Ca^{2+} 信号转导激活相关酶和基因,对低温做出适应性调节,接着细胞质 Ca^{2+} 水平回到静息态水平。如果细胞质 Ca^{2+} 水平回不到静息态的水平,就造成伤害。

5.2 冻害与冻害机理

5.2.1 冻害

0 ℃以下低温对植物的危害叫做冻害(freezing injury)。在世界许多地区都会遇到冰点以下的低温,对大部分作物可造成程度不同的冻害。因此,0 ℃下低温是限制植物分布和农业生产的主要环境因子。冻害发生的温度限度,可因植物种类、生育时期、生理状态、组织器官及其经受低温的时间长短而有很大差异。大麦、小麦、燕麦、苜蓿等越冬作物一般可忍耐 -12 ~ -7 ℃的严寒;有些树木,如白桦可以经受 -45 ℃的严冬而不死;种子的抗冻性很强,在短时期内可经受 -110 ℃以下冰冻而保持其发芽能力;某些植物的愈伤组织在液氮下,即在 -196 ℃低温下保存4个月之久仍有活性。研究植物的抗冻性有助于人们了解植物抗冻机制并使之服务于生产实践,尽可能地减少因冻害对生产引起的不良影响。因此,植物抗冻性一直以来都是人们研究的热点。冻害对植物的危害主要是由于组织或细胞结冰引起的伤害。由于温度下降的程度和速度不同,植物体内结冰的方式不同,受害情况也有所不同。

(1) 细胞内结冰

环境温度骤然降低时,细胞内会同时结冰。一般先在原生质内结冰,尔后在液泡内结冰。细胞内冰晶体积小、数量多,它们的形成会对生物膜、细胞器和基质结构造成不可逆的机械伤害。原生质具有高度精细结构,复杂而又有序的生命活动与这些结构密切相关,原生质结构的破坏必然导致代谢紊乱和细胞死亡。细胞内结冰一般在自然条件下不常发生,一旦发生植物就很难存活。

(2) 细胞间结冰

当环境温度缓慢降低,使植物组织内温度降到冰点以下时,细胞间隙的水开始结冰,即所谓的胞间结冰。胞间结冰对植物造成的伤害是:①使原生质脱水。由于胞间结冰降低了细胞间隙的水势,使细胞内的水分向胞间移动,随着低温的持续,原生质会发生严重脱水,造成蛋白质变性和原生质不可逆的凝固变性;②机械损伤。随着低温的持续,胞间的冰晶不断增大,当体积大于细胞间隙空间时会对周围的细胞造成机械性的损伤;③融冰伤害。当温度骤然回升时,冰晶迅速融化,细胞壁迅速吸水恢复原状,而原生质会因为来不及吸水膨胀,可能被撕裂损伤。胞间结冰不一定会使植物死亡,大多数植物胞间结冰后经缓慢解冻仍能恢复正常生长。

5.2.2 冻害机理

冻害可以造成膜系统的破坏。例如,在 -10 ℃的低温下,抗冻性弱的柑橘品种的电解质透出率是抗冻性强的柑橘品种的2~3倍。膜系统破坏可以直接影响到植物的生长和发育。例如,

早春遭受冻害的黑麦根系失去再生的能力，而没有遭受冻害的黑麦则有新生根的出现。关于冻害机理主要有两种假说，一是膜伤害假说，一是巯基假说。①膜伤害假说：细胞膜是结冰伤害最敏感的部位，许多实验证明，冰冻引起细胞的损伤主要是膜系统受到伤害。组成膜的脂类分子间非极性程度很高，分子间的内聚力小，当结冰脱水引起原生质收缩而产生内拉外张的应力时，脂质层会被拉破，使膜选择透性丧失，这样，一方面造成细胞内的电解质和非电解质大量外渗（外渗液中主要是 K^+、Ca^{2+}；糖类）；另一方面，膜相变使得一部分与膜结合的酶游离而失活，光合磷酸化和氧化磷酸化解耦联，ATP 合成明显下降，引起代谢失调，严重时导致植株死亡。在所有的膜系统的破坏中，叶绿体膜最先受到损伤，从而使光合作用受抑制，其次是液泡膜，最后是原生质膜的损伤。②巯基假说：提出冰冻使植物受害是由于细胞结冰引起蛋白质损伤，当细胞内原生质遭受冰冻脱水时，随着原生质收缩，蛋白质分子相互靠近，当接近到一定程度时蛋白质分子中相邻的巯基（－SH）氧化形成二硫键（－S－S－）。解冻时蛋白质再度吸水膨胀，肽链松散，氢键断裂，二硫键仍保留，使肽链的空间位置发生变化、蛋白质的天然结构破坏，引起细胞伤害和死亡。因此，组织抗冻性的基础在于阻止蛋白质分子间二硫键的形成。这一假说已得到一些实验的支持。研究发现，冻害发生时，植物组织匀浆中－SH 含量与植物的抗冻性直接相关，抗冻性较强的植物具有一定抗－SH 氧化能力，可避免或减少二硫键的形成（王宝山，2007）。

5.3 低温锻炼及适应性变化

植物遭受低温胁迫时会引发一系列生理和结构变化。然而许多植物经非冷害低温处理后，其抗冷性会增强，这就是所谓的冷驯化现象。冷驯化包括寒驯化和冻驯化两种类型。在冷驯化过程中，植物在生长和生理上都发生一些相应的变化（图 5－4）。

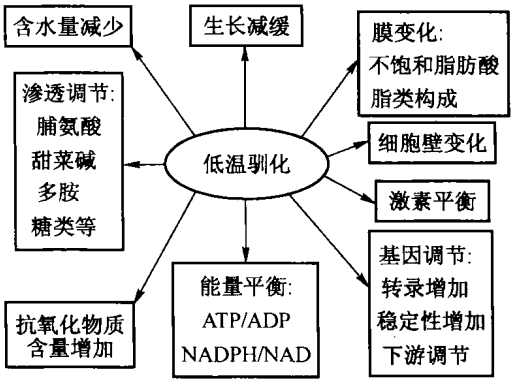


图 5－4 植物在低温驯化过程中的物质和变化

（引自曹琴等，2004）

5.3.1 生理生化变化

（1）含水量下降

随着温度下降，植物含水量逐渐减少，特别是自由水与束缚水相对比值减小。由于束缚水不易结冰和蒸腾，所以总含水量减少和束缚水含量相对增多，有利于植物抗寒性的加强。

（2）激素变化

随着秋季日照变短、气温降低，许多树木的叶片逐渐合成较多的脱落酸，并将其运到生长点（芽），抑制茎的伸长，而生长素与赤霉素的含量则减少。研究表明，抗冷性强的植物**赤霉素**（gibberellin，GA）含量一般低于抗冷性弱的，而内源**脱落酸**（abscisic acid，ABA）含量却相反。植物内源 ABA 在低温驯化信号转导过程中起重要作用。正常生长温度（22 ℃）下，ABA 处理可以增加包括拟南芥在内的许多植物的抗寒性，而低温驯化时，内源 ABA 含量迅速增加。ABA 缺陷型突变体（*aba*－1）经过低温驯化后抗寒能力削弱，外加 ABA 可以使其抗寒性恢复到野生植株的水平。ABA 不敏感突变体（*abi*－1）诱导 *COR* 基因表达，但外源施用 ABA 不能产生低温驯化作

用。这说明 *aba* -1 突变体中 ABA 的下游信号被切断,而突变体 *aba* -1 中缺少的是 ABA 的上游信号(曹琴等,2004)。一般而言,植物在抗冷锻炼期间,随着 ABA/GA 的比值升高,生长和代谢逐渐下降,抗冷性逐渐增强;而在脱锻炼期间,随着 ABA/GA 的比值下降,抗冷性也逐渐减弱,生长和代谢逐渐恢复(马文月,2004)。有些研究者认为**细胞分裂素**(cytokinin,CTK)在植物抗寒锻炼初期并不起作用。Dumbroff 等(1979)在糖槭上的研究也认为 CTK 可能不参与抗寒力调控过程。

(3) 生长下降甚至停止进入休眠

冬季来临之前,植物的呼吸随着温度的下降而逐渐减弱,很多植物在冬季的呼吸速率仅为正常生长发育时呼吸的 0.5%。细胞呼吸弱,消耗的糖分少,有利于糖分积累,从而有利于对不良环境的抵抗。此时,植株生长变缓,甚至停止生长,进入休眠状态,以度过严酷的冬季。

(4) 保护性物质增加

脯氨酸、甜菜碱和可溶性糖等小分子可溶性物质　温度下降时,游离脯氨酸和甜菜碱等含量升高。研究表明,番茄积累脯氨酸的体细胞突变体中,脯氨酸积累与其抗寒性提高一致。4 ℃时驯化野生型拟南芥植株,脯氨酸增加 10 倍,说明脯氨酸在植物抗寒中具有一定作用。但是拟南芥低温驯化中脯氨酸水平的增加发生在抗寒性提高之后,而一些突变体与不驯化的野生株一样具有很低的脯氨酸水平,却同样具有抗寒能力。因此,脯氨酸在植物抗寒中的作用有待进一步研究。

甜菜碱是一种季胺类化合物,它作为一种重要渗透调节物质,积累在细胞质内保持与液泡之间的渗透平衡,可以维持低温胁迫条件下植物酶的活性,通过保持光系统Ⅱ复合体蛋白的稳定性来保持低温胁迫下光系统的活性。研究发现,大麦冬、春两种类型近等基因系在冷适应过程中甜菜碱水平随冷处理时间的延长而增加,而且不同叶位间存在明显差异,新生叶甜菜碱的积累量显著高于老叶片,积累量随胁迫时间延长而增加,老叶片不仅积累少,对胁迫时间的延长也基本没有反应(代红军和曾洪学,2006)。

在温度下降的时候,植物体内淀粉水解加剧,可溶性糖含量增加(葡萄糖、蔗糖等),细胞液的浓度增高,使冰点降低,减轻细胞的过度脱水,也可以保护原生质胶体不致遇冷凝固。低温与可溶性糖含量之间存在显著的负相关关系,即温度越低,可溶性糖含量越高。可溶性糖含量的增加能增强植物抗冷性,因此可溶性糖类的含量经常作为植物抗冷性鉴定的重要参数之一。

氨基酸　在高等植物研究中发现氨基酸含量与植物抗寒性存在着相关性。在低温条件下,植物体内还会贮藏氨基酸。氨基酸对碳、氮营养贮备均有重要意义,并对根部贮藏碳在春季的再利用起特殊作用(夏国海等,1990)。光下低温处理对减数分裂期水稻叶片中氨基酸总量(包括膜结合与非膜结合蛋白质水解氨基酸和游离氨基酸)的影响主要表现在 Asp 和 Glu 两种氨基酸上,Ala,Pro,Lys 含量也有不同程度的变化(张红等,1996)。Krogaard 等(1983)报道了经过一段时间低温预处理后,烟草花粉第一次有丝分裂时花药中出现游离氨基酸含量高峰,认为游离氨基酸的增加有利于花粉的成胚。并且认为谷氨酸、丙氨酸、天门冬氨酸是重要的氨基酸。4 ℃胁迫 3 d 时水稻叶片游离氨基酸总量增加 17%,并伴随有各氨基酸组分含量的不同变化(曾乃燕等,2000)。

积累抗冻蛋白　此外,细胞内还大量积累蛋白质、核酸等,使原生质贮藏许多物质,这样可以提高其抗寒性。**抗冻蛋白**(antifreeze proteins,AFPs)是一类抑制冰晶生长的蛋白质,它能以非依数形式降低水溶液的冰点而对其熔点影响很小,于是导致水溶液的熔点和冰点之间出现差值,这

种差值称为热滞活性，因此抗冻蛋白也称为热滞蛋白或温度迟滞蛋白。在对低温的适应过程中，抗冻性强的冬小麦、春小麦、冬黑麦和春黑麦在胞质中积累 AFPs，进而阻止冰晶的生长。而冷敏感的菠菜和烟草等胞质中没有 AFPs 积累，结果冰晶生长（图 5－5），表现出冻害（Antikainen 和 Griffith，1997）。AFPs 提高植物抗冻性的机制主要包括：①降低原生质溶液的冰点，避免植物体内形成冰晶；②抑制冰晶的重结晶；③修饰胞外冰晶的生长形态；④调节原生质体的过冷状态。目前已经从植物中分离得到了多种抗冻蛋白（表 5－1）。除此之外，胚胎发育后期丰富蛋白（late embryogenesis abundant proteins，LEAs）和热激蛋白（heat shock protein，HSPs）等一些与防低温脱水功能相关的蛋白也与植物耐低温有关。过量表达甜椒热激蛋白基因的烟草，抗冷性提高（Guo 等，2007）。

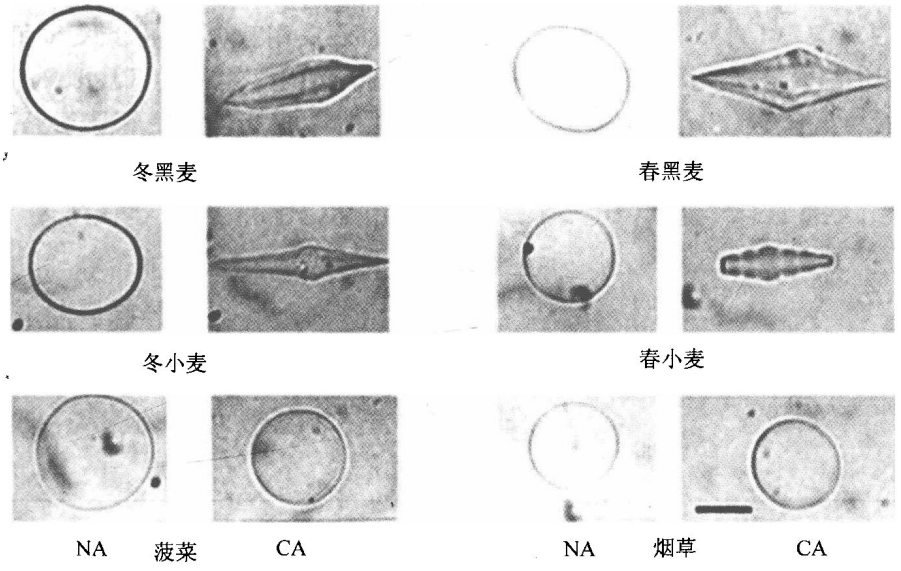


图 5－5 叶片质外体抗冻蛋白（AFPs）在冷适应（CA）和非冷适应（NA）植物中的活性

通过观察溶液中冰晶的生长情况来测定抗冻蛋白的活性。（引自 Antikainen 和 Griffith，1997）

表 5－1 目前已经从植物中分离得到的多种抗冻蛋白（引自王瑞云等，2006）

植物 plant species	抗冻蛋白相对分子质量 molecular mass of anti-freezing proteins/ $\times 10^3$	同源蛋白 homology	基因库登录号码 genebank accession NO.	文献（见原文） references
欧白英 *Solanum dulcamara*	67	调控 PR 蛋白合成的转录因子 wRKY protein	AAL26842	18
欧白英 *Solanum dulcamara*	47	几丁质酶类似蛋白 chitinase-like protein		18
欧白英 *Solanum dulcamara*	29	I 型几丁质酶类似蛋白 class I Chitinase-like protein	AAP32201	18
胡萝卜 *Daucus carota*	36	多聚半乳糖醛酸酶抑制子蛋白 ploygalacturonase inhibitor protein	AF055480	33
多年生黑麦草 *Lolium perenne*	29	无同源蛋白 no homology reported	AJ277399 (fragment)	38

续表

植物 plant species	抗冻蛋白相对分子质量 molecular mass of anti-freezing proteins/ $\times 10^3$	同源蛋白 homology	基因库登录号码 genebank accession NO.	文献（见原文） references
冬黑麦 *Secale cereale*	35	β-1,3 内切葡聚糖酶 β-1,3 endoglucanase		17
冬黑麦 *Secale cereale*	32	β-1,3 内切葡聚糖酶 β-1,3 endoglucanase		17
冬黑麦 *Secale cereale*	35	Ⅰ型内切几丁质酶 class Ⅰ endochitinase	AF280437	17
冬黑麦 *Secale cereale*	28	Ⅱ型内切几丁质酶 class Ⅱ endochitinase	AF280438	53
冬黑麦 *Secale cereale*	25	类奇甜蛋白 thaumatirr-like protein		17
冬黑麦 *Secale cereale*	16	类奇甜蛋白 thaumatirr-like protein		17
沙冬青 *Ammopiptanthus mongolicus*	50	无同源蛋白 no homology reported		8
沙冬青 *Ammopiptanthus mongolicus*	28	无同源蛋白 no homology reported		49
桃树 *Prunus persica*	60	脱水素 dehydrin		50

色素　植物在低温胁迫处理过程中，叶绿素、类胡萝卜素等色素含量降低。对 4 ℃和 11 ℃两种低温胁迫过程中水稻类囊体膜色素的变化进行了比较研究发现 4 ℃低温能使类囊体膜中的光合色素（叶绿素、类胡萝卜素）含量降低（曾乃燕等，2000）。

经低温胁迫初期锻炼后，类胡萝卜素含量相对趋于稳定。目前已知，类胡萝卜素可参与植物光合机构中过剩光能的耗散，从而使植物免受光抑制的损伤（Demming-Adams 和 Adams，1992）；而低温对植物造成伤害的机理之一被认为是低温增强了植物对光抑制的敏感性，因此推测，经低温初期锻炼的水稻叶片类胡萝卜素含量的相对稳定，可能是水稻幼苗对低温胁迫的一种适应性表现。花青素具有极强的抗氧化活性，是一种很好的氧自由基清除剂和脂质过氧化抑制剂。光可诱导花青素合成，低温可促进花青素积累。

膜脂不饱和度增加　冷驯化可提高膜脂不饱和脂肪酸含量。研究发现落地生根属植物在较高温度下比正常生长温度下液泡膜的流动性降低，而在较低生长温度下却相反。低温下脂肪酸饱和度降低是去饱和酶基因的表达导致的。早在 1994 年人们就发现拟南芥受低温诱导能产生一种脂肪酸去饱和酶，该酶为由 *Fad*8 基因编码的叶绿体 ω-3 蛋白，还有 *Fad*7 也编码脂肪酸去饱和酶，并且两者功能互补。上述基因在低温诱导下表达，植物细胞提高膜脂不饱和脂肪酸含量，降低膜相变温度，是保护液晶态膜蛋白正常功能的一种自身保护机制。将 *Fad*7 基因转入烟草后，发现 Fad7 蛋白超量产生，烟草中 C18:3 不饱和脂肪酸增加，植株抗寒性也相应提高。膜脂不饱和度增加有利于细胞结构稳定性提高，增加植物抵御低温的能力。

5.3.2 细胞结构的变化

(1) 细胞结构稳定性提高

细胞结构的稳定性与棉花品种的抗冷性密切相关。Kimball 和 Salisbury(1973)对几种抗寒性牧草的低温实验结果证实,叶绿体膜结构的稳定性与植物种类的抗寒性成正相关。董合铸等(1980)指出,小麦植株经冰冻后,最先受到伤害的是叶绿体,线粒体则表现出相对的稳定性。李生泉等也证明叶绿体结构的稳定性与棉花品种的抗冷性有着密切的相关性。抗冷性较强的早熟品种在 4 ℃的低温处理过程中,仍能保持其叶绿体结构的完好性,从而保证了光合作用的继续进行。这也许正是其抗冷性较强的内在原因之一(李生泉等,1998)。

(2) 核质间及胞间的通道逐渐缩小

植物在经受低温锻炼时,核质间及胞间的通道逐渐缩小,脂类化合物集中在细胞表层,使水分不易透过,代谢降低,细胞内不易结冰,能防止过度脱水,在细胞结构上表现出对低温的适应。

5.4 植物抗冻信号转导及抗冻基因工程

5.4.1 抗冻信号转导

低温作为信号被细胞感知后,通过一定的信号系统启动或阻遏某些基因的表达,其中包括 Ca^{2+}、ABA、蛋白磷酸化酶、蛋白激酶和一些转录因子等(图 5-6)。

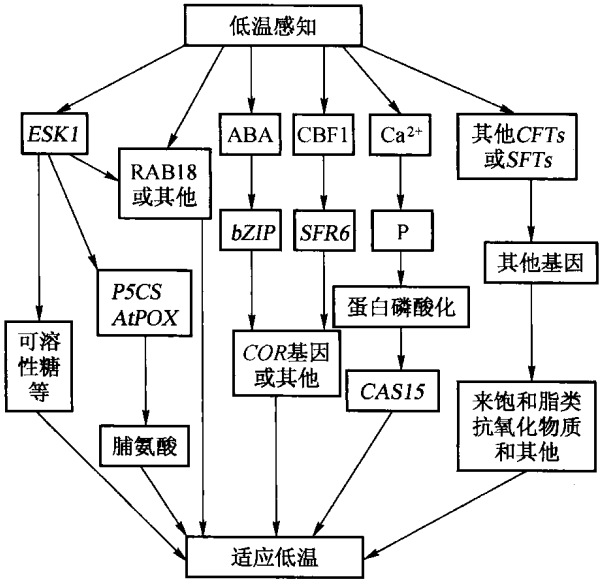


图 5-6 植物低温驯化信号转导的可能途径

(引自曹琴等,2004)

5.4.2 抗冻基因工程

迄今为止,植物抗寒基因工程的研究主要是以下几个方面:①鱼类抗冻基因途径;②脂肪酸去饱和代谢关键酶基因途径;③超氧物歧化酶基因途径;④糖类基因途径;⑤冷诱导基因(*COR*)、CBF 转录因子、ICE 转录激活因子等。

(1) 鱼类抗冻基因途径

植物转鱼类抗冻基因工程开始得比较早,目前已经取得较大进展。Hightower 和 Baden (1991)将 *afa*3、*Spa-afa*5 基因(北极比目鱼的 2 种具有序列重复特性的抗冻基因)导入烟草和番茄中,获得转基因植株。转 *afa*3 基因植株的叶子表达出高稳定态的 mRNA,但在组织提取物中没有检测到抗冰晶化作用。然而在 Spa-afa5 转基因番茄组织中检测到 mRNA 与融合蛋白,转该基因番茄的组织提取液在冰冻条件下能阻止冰晶增长(李璐等,2004)。

(2) 脂肪酸去饱和代谢关键酶基因途径

Kodama(1994)将拟南芥叶绿体 ω-3 脂肪酸脱氢酶基因 *Fad*7 基因转入烟草中,Fad7 蛋白超表达,烟草中 C16:2 和 C18:3 不饱和脂肪酸增加,相应的前体 16:2 和 18:3 减少。将转基因植物在低温 1 ℃下培养数天后转入 25 ℃下培养,其生长受抑程度明显减轻,而且缓解低温引起的缺绿症。将从南瓜藤和拟南芥中得到的甘油 3-磷酸酰基转移酶基因导入烟草中,能明显改变磷脂酰甘油的脂肪酸组成,并提高其抗冻力。番茄中甘油 3-磷酸酰基转移酶基因的过量表达也能提高番茄的抗冷性(Sui 等,2007)。将菠菜的硬脂酰基载体蛋白去饱和酶 *SAD* 基因导入烟草中也能增强转基因烟草的抗冻性(黄文功等,2006)。番茄中 *Fad*7 基因的过量表达能够提高番茄的抗冷性(Liu 等,2008)。

(3) 超氧物歧化酶基因途径

人们发现,将含有 SOD 的 cDNA 转入烟草、番茄等植物中,能提高植物的抗氧化能力,而且对植物抗冻具有重要意义。例如,将烟草的 Mn-SOD cDNA 导入苜蓿后发现,转基因植株不仅抗冻性增强,而且对除莠剂的抗性也增强,其后代在冻害胁迫后生长比没有转基因植株快得多。由此认为是 Mn-SOD 抑制了超氧自由基的产生,从而提高抗寒能力(李璐等,2004)。

(4) 糖类和脯氨酸基因途径

糖类与脯氨酸等保护性物质与植物抗寒性密切相关。Hincha 等(1990)将细菌焦磷酸酶(pyrophophatase)基因与酵母菌的转化酶(β-呋喃果糖苷酶)基因转化到烟草后发现,可溶性碳水化合物在转基因植株叶中积累,其表达细菌焦磷酸酶的植株耐霜力比野生型烟草提高1.2 ℃,而表达酵母菌转化酶基因的烟草植株耐霜力也有所提高(李璐等,2004)。

Parvanova(2004)将脯氨酸基因转入拟南芥,转基因和对照植株经过 -2 ℃处理 12 h,转基因植株存活而对照植株死亡。Gleeson 等(2005)利用农杆菌将 *Vigna aconitifolia* 基因转化到落叶松,结果转基因植株的脯氨酸含量比未转基因的对照植株高 30 倍,转基因植株的抗冻性得到很大提高。

(5) 冷诱导基因、CBF 转录因子和 ICE 转录激活因子

冷诱导基因(cold induced gene,*COR*)的启动子区域含有具有五个碱基核心序列 CCGAC 的**脱水反应元素** DRE(dehydration-responsive element),DRE 作为顺式作用启动子元素,能在低温胁迫时激活 *COR* 基因的表达(黄文功等,2006)。Hara 等(2003)将 Cu-*COR*19 转入烟草,和对照

烟草植株相比较,转基因植株电渗值较低、发芽率较高、抗冻性有所提高。

拟南芥中 CBF(c-repeat-binding factor)转录因子家族包括 *CBF*1、*CBF*2 和 *CBF*3,这三种基因的表达能使拟南芥脯氨酸和蔗糖含量增加,同时使拟南芥抗冻性也得到一定提高。但 CBF 途径是一个高能耗过程,虽然能提高植株在低温逆境条件下的存活率,却能引起生长延滞及赤霉素合成下降。因此 CBF 途径作为一种特殊条件下的应急反应,在适宜的环境条件下则处于关闭或几乎关闭的状态。三种 CBF 能结合到 *COR* 基因的 DRE 序列上,从而诱导一系列 *COR* 基因的表达,因此有人把 CBF 转录因子看作低温时激活一些 *COR* 基因的开关(黄文功等,2006)。目前人们已经在多种作物中进行了 CBF 转录因子的转基因研究(表 5-2)。

ICE(inducer of CBF expression)转录激活因子是在低温时诱导 *CBF* 家族表达的转录激活因子,它在低温时能特定地结合到 CBF 的启动子序列上,诱导 *CBF* 的表达,而后 *CBF* 结合到其下游目的基因启动子的 DRE 序列上,诱导 *COR* 的表达,从而提高植株的抗冻性(黄文功等,2006)。

总之,植物在经受低温锻炼过程中,通过诱导相关基因的表达使植物在生理生化上产生一系列适应性反应,在结构与生理上都表现出对低温环境的适应。

表 5-2 导入 CBF 相关基因获得的低温抗性植物(引自王洋等,2007)

目的基因	来源物种	转入物种	获得的抗性	研究者(年限,见原文)
*CBF*1,*CBF*3	拟南芥	拟南芥	低温,高盐,干旱	Jaglo 等(1998)
*CBF*1,*CBF*2,*CBF*3	拟南芥	甘蓝油菜	低温,干旱	Jaglo 等(2002)
*CBF*1	拟南芥	油菜	低温	Zhen 等(2000)
*CBF*1	拟南芥	水稻	低温,高盐,干旱	Ou 等(2005)
*CBF*1	拟南芥	水稻	低温,高盐	Wu 等(2006)
*CBF*1	拟南芥	黑麦	低温,干旱	Yang 等(2006)
*CBF*3	拟南芥	小麦	低温,高盐,干旱	Kim(2003)
*CBF*1	拟南芥	西红柿	低温,干旱,氧化	Hsieh 等(2001)
*CBF*1	拟南芥	草莓	低温	Owen 等(2002)
*CBF*1	拟南芥	烟草	低温,干旱	Kasuga 等(2004)
*CBF*1	拟南芥	烟草	低温	Zhen 等(2000)
ZmCBF	玉米	玉米	低温	Chaiappetta(2002)
ZmCBF	玉米	拟南芥	低温,高盐,干旱	Qin 等(2004)
OsDREB1A	水稻	拟南芥	低温,高盐,干旱	Dubouzet 等(2003)
SCOF-1	大豆	拟南芥	低温,高盐,干旱	Kim 等(2001)

5.5 提高植物抗低温能力的途径

5.5.1 抗冻锻炼

在霜冻到来之前,缓慢降低温度,经过低温锻炼,使植物逐渐完成适应低温的一系列代谢变化:膜的不饱和脂肪酸含量增加,相变温度降低,透性稳定,增强抗冻能力。

5.5.2 化学调控

用植物生长调节剂处理植物，可以提高植物的抗逆性。如生长延缓剂 AMO－1618、多效唑广泛用于果树，使其矮化，促进花芽分化。玉米、棉花种子播种前用福美双（TMTD）处理，可提高抗冷性。叶面喷施 2，4－D 也有保护作物不受低温危害的作用。同时这些生长延缓剂能抑制赤霉素的合成，提高树木的抗寒性。用矮壮素处理小麦、水稻、油菜等可以提高其抗寒性也已在生产上应用。

5.5.3 农业措施

除选育抗低温能力强的品种外，许多农业措施也能在一定程度上提高植物的抗冻性。如适时播种、培土、增施磷钾肥、厩肥、熏烟、冬灌、盖草、地膜覆盖等都可起到保护植物和预防冻害的作用。

5.5.4 转基因技术

通过转基因技术等现代生物技术培育抗低温能力强的植物新品种（系）。

主要参考文献

1 曹琴，孔维府，温鹏飞．植物抗寒及其基因表达研究进展．生态学报，2004，24：806～811.

2 陈国祥，何兵，魏锦城，等．低温下强光胁迫对小麦叶片光系统Ⅰ结构与功能的影响．植物生理学报，2000，26(4)：337～342.

3 代红军，曾洪学．植物抗冻性研究进展．农业科学研究，2006，27：71～74.

4 董合铸，孙龙华等．不同抗寒性小麦品种的麦苗在冰冻—化冻后叶片细胞亚显微结构的变化．植物学报，1980，22(4)：339～342.

5 黄文功，殷奎德，高中超．植物抗冻基因工程研究进展．生物技术通报，2006，2：1～4.

6 简令成，王红．钙（Ca^{2+}）在植物抗寒中的作用．细胞生物学杂志，2002，24：166～171.

7 李璐，王晓军，赵民安．植物抗冻基因．植物生理学通讯，2004，40：643～650.

8 李生泉，侯燕平，范月仙．不同抗冷级别的棉苗在低温处理后叶片细胞超微结构的变化．电子显微学报，1998，17(3)：231～236.

9 李新国，段伟，孟庆伟，等．PSI 的低温光抑制．植物生理学通讯，2002，38：375～381.

10 林多，杨延杰，范文丽，等．低温对番茄幼苗叶片活性氧代谢的影响．辽宁农业科学，2001(5)：1～4.

11 曾乃燕，何军贤，赵文，等．低温胁迫期间水稻光合膜色素与蛋白水平的变化．西北植物学报，2000，20(1)：8～14.

12 刘洪波，林思祖，丁国昌，等．不同低温处理对 3 种相思树种叶片细胞超微结构影响的比较研究．江西农业大学学报，2005，2：735～739.

13 刘炜，孙德兰，王红，等．低温处理对冬、春小麦细胞 Ca^{2+} 时空变化的影响．植物学报，2001，43：1218～122.

14 马文月．植物冷害和抗冷性的研究进展．安徽农业科学，2004，32(5)：1003～1006.

15 王宝山．植物生理学．2 版．北京：科学出版社，2007.

16 王瑞云，李润植，孙振元等．抗冻蛋白与植物低温胁迫反应．应用生态学报，2006，17：551～556.

17 王洋，胡吉吉，王崇英．拟南芥 CBF/DREB 途径的研究进展及其在植物基因工程中的应用．生物物理

学报,2007,23:101 ~ 107.

18 夏国海,罗新书. 苹果幼树秋季^{14}C同化物贮藏及再利用. 园艺学报,1990,17(2):6 ~ 102.

19 许玲,张维一,田允温. 低温冷害对哈密瓜外部形态和细胞结构的影响. 植物学报,1990,10:38 ~ 42.

20 严寒静,谈锋. 自然低温下栀子叶片叶绿体超微结构的变化. 中医药导报,2006,12:1 ~ 2.

21 叶济宇. 叶绿体的电子传递.//余叔文,汤章城. 植物生理与分子生物学. 北京:科学出版社,1998,198 ~ 211.

22 张红,陈善娜,李聪. 低温处理对水稻叶片和花药中氨基酸的影响. 云南大学学报,1996,18(2):173 ~ 175.

23 Allen D J, Ort D R. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. Tren Plant Sci, 2001,6:36 ~ 42.

24 Antikainen M, Griffith M. Antifreeze protein accumulation in freezing-tolerant cereals. Physiologia Plantarum, 1997,99:423 ~ 432.

25 Aro E M, Virgin I, Andersson B. Photoinhibition of Photosystem Ⅱ. Inactivation, protein damage and turnover. Biochim Biophys Acta,1993,1143:113 ~ 134.

26 Barber J, Andersson B. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. Trends Biochem Sci, 1992,17:61 ~ 66.

27 Barber J. Molecular basis of the vulnerability of photosystem Ⅱ to damage by light. Aust J Plant Physiol,1995, 22:201 ~ 208.

28 Chen T H H, Gusta L V, Flower D B. Freezing injury and root development in winter cereals. Plant Physiol, 1983,73:773 ~ 777.

29 Crookston R K, Otoole J, Lee R *et al.* Photosynthetic depression in beans after exposure to cold for one night. Crop Sci,1974,14:457 ~ 464.

30 Demmig-Adams B. Carotenoids and photoprotection in plants: *a role for the xanthophylls zeaxanthin*. Biochim Biophys Acta,1990,1020:1 ~ 24.

31 Demming-Adams B, Adams W W. Photoprotection and other responses of plant to high light stress. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol,1992,43:599 ~ 626.

32 Dumbroff E B, Cohen DB, Webb D P. Seasonal levels of abscisic acid in buds and stems of *Acer saccharum*. Physiol Plantarum,1979,45:211 ~ 214.

33 Gerber D W, Burris J E. Photoinhibition and P700 in the marine diatom *Amphora* sp. Plant Physiol,1981,68: 699 ~ 702.

34 Gleeson D, Lelu-Walter M A, Parkinson M. Overproduction of proline in transgenic hybrid larch [*Larix* × *leptoeuropaea* (Dengler)] cultures renders them tolerant to cold, salt and frost. Molecular Breeding,2005,15:21 ~ 29.

35 Golbeck J H. Structure and function of photosystem Ⅰ. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol,1992,43: 293 ~ 324.

36 Golbeck J H. Structure, function and organization of the photosystem Ⅰ reaction center complex. Biochim Biophys Acta,1987,895:167 ~ 204.

37 Creer G H, Berry JA, Björkman O. Photoinhibition of photosynthesis in intact bean leaves: role of light and temperature and requirement for chloroplast-protein synthesis during recovery. Planta,1986,168:253 ~ 260.

38 Guo S J, Zhou H Y, Zhang X S *et al.* Overexpression of *CaHSP26* in transgenic tobacco alleviates photoinhibition of PSⅡ and PSⅠ during chilling stress under low irradiance. J Plant Physiol,2007,164(2):126 ~ 136.

39 Hara M, Terashima S, Fukaya T *et al.* Enhancement of cold tolerance and inhibition of lipid peroxidation by cit-

rus dehydrin in transgenic tobacco. Planta, 2003, 217: 290 ~ 298.

40 Havaux M, Davaud A. Photoinhibition of photosynthesis in chilled potato leaves is not correlated with loss of photosysthem - Ⅱ activity. Preferential inactivation of Photosystem Ⅰ. Photosynth Res, 1994, 40: 75 ~ 92.

41 Hightower R, Baden C, Penzes E *et al.* Expression of antifreeze proteins in transgenic plants. Plant Mol Biol, 1991, 117: 1013 ~ 1021.

42 Hincha D K, Heber U, Schmitt J M. Proteins from frost-hardy leaves protect thylakoids against mechanical freeze-thaw damage in vitro. Planta, 1990, 180: 416 ~ 419.

43 Hodgson R A L, Raison J K. Inhibition of photosynthesis by chilling in moderate light: a comparison of plants sensitive and insensitive to chilling, Planta, 1989, 178: 545 ~ 552.

44 Inoue K, Sakurai H, Hiyama T. Photoinactivation of photosystem Ⅰ in isolated chloroplasts. Plant Cell Physiol, 1986, 27: 961 ~ 968.

45 Kimball S L, Salibury FB. Ultrastructural changes of plants exposed to low temperatures. Am J Bot, 1973, 60: 1028 ~ 1033.

46 Kodama H, Hamada T, Horiguchi G *et al.* Genetic enhancement of cold tolerance by expression of a gene for chloroplast [omega]-3 fatty acid desaturase in transgenic tobacco. Plant Physiol, 1994, 105: 601 ~ 605.

47 Krogaard H, Andersen A S. Free amino acids of *Nicotiana alata* anthers during development in vivo. Physiol Plant, 1983, 57: 527 ~ 531.

48 Ku S B, Edwards G E, Smith D. Photosynthesis and nonstructural carbohydrate concentration in leaf blades of *Panicum virgatum* as affected by night temperature. Can J Bot, 1978, 56: 63 ~ 68.

49 Liu X Y, Li B, Yang J H *et al.* Overexpression of tomato chloroplast omega-3 fatty acid desaturase gene alleviates the photoinhibition of photosystems 2 and 1 under chilling stress. Photosynthetica, 2008, 46(2): 185 ~ 192.

50 Long S P, East T M, Baker N R. Chilling damage to photosynthesis in young *Zea mays* I. Effects of light and temperature variation on photosynthetic CO_2 assimilation. J Exp Bot, 1983, 34: 177 ~ 188.

51 Lunde C, Jensen P E, Haldrup A *et al.* The PSI-H subunit of photosystem I is essential for state transitions in plant photosynthesis. Nature, 2000, 408: 613 ~ 615.

52 Lyons J M. Chilling injury in plants. Annu Rev Plant Physiol, 1973, 24: 445 ~ 466.

53 Raison J K, Chapman E A. Membrane phase changes in chilling-sensitive *Vigna radiata* and their significance to growth. Aust J Plant Physiol, 1976, 3: 291 ~ 299.

54 Lyons J M, Raison J K. Oxidative activity of mitochondria isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury. Plant Physiol, 1970, 45: 386 ~ 389.

55 Murata N, Los D A. Membrane fluidity and temperature perception. Plant Physiol. 1997, 115: 875 ~ 879.

56 Nishida I, Murata N. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: The crucial contribution of membrane lipids. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1996, 47: 541 ~ 568.

57 Parvanova D, Popova A, Zaharieva I *et al.* Low temperature tolerance of tobacco plants transformed to accumulate proline, fructans, or glycine betaine. variable chlorophyll fluorescence evidence. Photosynthetica, 2004, 42: 179 ~ 185.

58 Peeler T C, Naylor A W. A comparison of the effects of chilling on thylakoid electron transfer in pea (*Pisum sativum* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.). Plant Physiol, 1988, 86: 147 ~ 151.

59 Powles S B. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. Ann Rev Plant Physiol, 1984, 35: 15 ~ 44.

60 Routaboul J M, Fischer S F, Browse J. Trienoic fatty acids are required to maintain chloroplast function at low temperature. Plant Physiol, 2000, 124: 1697 ~ 1705.

61 Sakurai I, Hagio M, Gombos Z *et al.* Requirement of phosphatidylglycerol for maintenance of photosynthetic

machinery. Plant Physiol, 2003, 133: 1376 ~ 1384.

62 Shen J R, Terashima I, Katok S. Cause for dark, chilling-induced inactivation of photosynthetic oxygen-evolving system in cucumber leaves. Plant Physiol, 1990, 93: 1354 ~ 1357.

63 Sonoike K, Kamo M, Hihara Y *et al.* The mechanism of the degradation of psaB gene product, one of the photosynthetic reaction center subunits of photosystem I, upon photoinhibition. Photosynth Res, 1997, 53: 55 ~ 63.

64 Sonoike K, Terashima I, Iwaki M *et al.* Destruction of photosystem I iron-sulfur centers in leaves of *Cucumis sativus* L. by weak illumination at chilling temperatures. FEBS Lett, 1995, 362: 235 ~ 238.

65 Sonoike K, Terashima I. Mechanism of photosystem-I photoinhibition in leaves of *Cucumis sativus* L. Planta, 1994, 194: 287 ~ 293.

66 Sonoike K. Degradation of psaB gene product, the reaction center subunit of photosystem I, is caused during photoinhibition of photosystem I: Possible involvement of active oxygen species. Plant Sci, 1996a, 115: 157 ~ 164.

67 Sonoike K. Photoinhibition of photosystem I: Its physiological significance in the chilling sensitivity of plants. Plant Cell Physiol, 1996b, 37(3): 239 ~ 247.

68 Sonoike K. Selective photoinhibition of photosystem I in isolated thylakoid membranes from cucumber and spinach. Plant Cell Physiol, 1995, 36: 825 ~ 830.

69 Sui N, Li M, Zhao S J *et al.* Overexpression of glycerol-3-phosphate acyltransferase gene improves chilling tolerance in tomato. Planta, 2007, 226: 1097 ~ 1108.

70 Terashima I, Funayama S, Sonoike K. The site of photoinhibition in leaves of *Cucumis sativus* L. at low temperatures is photosystem I, not system II. Planta, 1994, 193: 300 ~ 306.

71 Terashima I, Huang L R, Osmond C B. Effects of leaf chilling on thylakoid functions measured at room temperature in *Cucumis sativus* L. and *Oryza sativa* L. Plant Cell Physiol, 1989a, 30: 841 ~ 850.

72 Terashima I, Kashino Y, Katoh S. Exposure of leaves of *Cucumis sativus* L. to low temperatures in the light causes uncoupling of thylakoids I Studies with isolated thylakoids. Plant Cell Physiol, 1991b, 32: 1267 ~ 1274.

73 Terashima I, Shen J R, Katoh S. Chilling damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) thylakoids. In Plant Water Relations and Growth under Stress (eds. M Tazawa, M Katsumi, Y Masuda and H. Okamoto) Yamada Science Foundation, Osaka and My K K, Tokyo, 1989b, 470 ~ 472.

74 Terashima I, Sonoike K, Kawazu T *et al.* Exposure of leaves of Cucumis sativus L to low temperatures in the light caused uncoupling of thylakoids Ⅱ Non-destructive measurements with intact leaves. Plant Cell Physiol, 1991a, 32: 1275 ~ 1283.

75 Tjus S E, Moller B L, Scheller H V. Photosystem I is an early target of photoinhibition in barley illuminated at chilling temperatures. Plant Physiol, 1998, 116: 755 ~ 764.

76 Wise R R, Naylor A W. Chilling-enhanced photooxidation. Evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdown of pigments and endogenous antioxidants. Plant Physiol, 1987, 83: 278 ~ 282.

思考题

1. 低温胁迫对植物的光合机构产生哪些影响?
2. 植物抗低温胁迫的生理机制是什么?
3. 试述低温胁迫下植物体内积累的渗透调节物质的种类以及它们的特点和生理作用。
4. 如何通过基因工程的手段提高植物的抗低温能力?
5. 简述膜脂脂肪酸含量与植物抗冷性的关系及研究进展。

6 高温逆境植物生物学

6.1 植物对温度反应类型

由高温引起植物的伤害称为热害(heat injury),而植物对高温胁迫的适应则称为抗热性(heat resistance)。但热害的温度很难界定,因为不同种类的植物对高温的忍耐程度有很大差异。根据不同植物对温度的反应,可分如下几类:

(1) 喜冷植物　某些藻类、细菌和真菌,生长温度0 ℃以上,当温度在15 ~ 20 ℃以上即受高温伤害。

(2) 中生植物　水生和阴生的高等植物、地衣和苔藓等,生长温度为11 ~ 30 ℃,超过35 ℃就会受伤。

(3) 喜温植物　有些植物在45 ℃以上就受伤害,称为适度喜温植物,如陆生高等植物、某些隐花植物;有些植物则在65 ~ 110 ℃下才会受伤害,称为极度喜温植物,如蓝绿藻、真菌等。

发生热害的温度和作用时间有关,即可忍耐的高温和暴露的时间成反比,暴露时间越短,植物可忍耐的温度越高。

6.2 热胁迫对植物形态结构的影响

6.2.1 外部形态变化

植物受高温伤害后会出现各种症状:树干(特别是向阳部分)干燥、裂开,如澳大利亚的许多多年生树干的树皮出现干裂及脱落;叶扁化,簇生;叶片出现死斑,叶片变褐、变黄、叶尖坏疽;鲜果(如葡萄、番茄等)烧伤,后来受伤处与健康处之间形成木栓,有时甚至整个果实死亡;出现雄性不育,花序或子房脱落等异常现象。

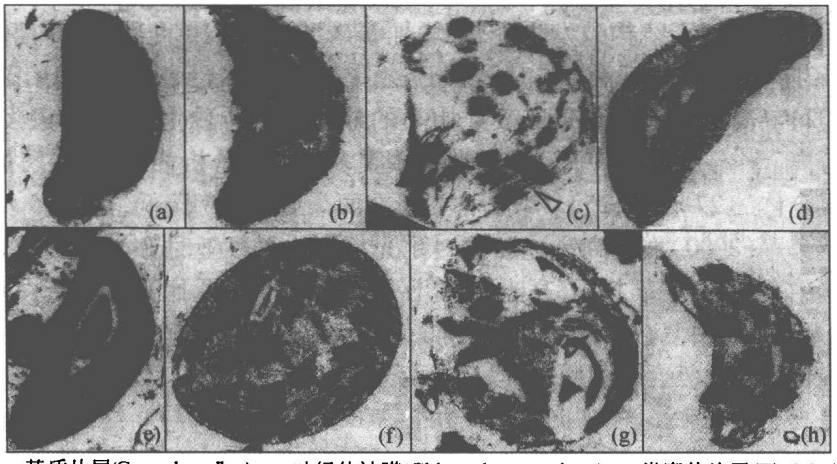
6.2.2 内部结构的变化

在许多植物中,在小孢子发生时期对高温最敏感,如菜豆(开花前6 ~ 8 d)、花生(开花前3 ~ 6 d)、番茄(开花前7 ~ 15 d),此时遭受热胁迫会造成雄性不育。研究表明,雄性不育番茄小孢子发生比大孢子发生和开花后对高温更敏感。小麦单核期花药中小孢子和绒毡层细胞对高温(45 ℃)最敏感,处理仅10 min就可引起细胞内线粒体等细胞内膜系统破裂或破碎,而花药表皮

内壁和中层需高温处理30 min才能发生相同的超微结构变化，随着小孢子的发育，其对高温的敏感性下降，发生相似变化的高温处理时间为30 min(章建新等，2000)。热激对小孢子发生的影响主要表现在影响其发育能力，不良的花粉开裂导致雄性不育。在未受胁迫的花药中，花粉粒圆，着色好，且正常开裂。持续热激下，花药啮喙完整，阻止花药开裂(王义菊，2005)。

6.2.3 细胞超微结构的变化

高温胁迫除了影响植物形态和内部的组织器官结构外，还会影响到植物细胞各种超微结构。耐热品种在高温下叶肉细胞的结构基本保持正常状态和完整性，叶绿体、线粒体结构正常，而感热品种在高温下叶肉细胞的超微结构发生了明显的变化，叶绿体趋于变圆，叶绿体膜出现不同程度的断裂、解体，类囊体片层松散，严重时完全破裂，基粒类囊体松散，基质外流，核膜、核仁、核质出现不同程度的破坏，特别是核仁逐渐消失，核内聚集很多染色较深的纤维状颗粒，而线粒体结构没有明显的变化(苗琛等，1996，1994；欧祖兰和曹福亮，2008)。在所有植物细胞的功能中，叶绿体的光合活性被认为是对高温最敏感的过程之一。高温对光合作用光反应的影响主要表现在对PSⅡ和类囊体膜的影响。研究表明高温胁迫可导致PSⅡ反应中心的破坏，抑制激发能从天线色素蛋白到PSⅡ反应中心的传递，并导致激发能更多的由PSⅡ向PSⅠ满溢(Sui等，2007)。王冬梅等(2004)以番茄耐热品种02276和感热品种L402为试材，观察其在高温下叶绿体的变化情况。结果表明，高温胁迫破坏番茄叶肉细胞叶绿体被膜和类囊体系统正常的超微结构。在高温胁迫下，从叶绿体的形状、类囊体系统结构、叶绿体被膜和常温下的恢复的表现进行比较，发现耐热的02276的表现好于感热的L402(图6-1)。说明番茄品种耐热性在细胞学上存在明显差异，高温胁迫下叶绿体的形态变化可以作为在细胞水平上评价其耐热性的重要参考指标。



◁基质片层(Grana lamellae) ◀叶绿体被膜(Chloroplast envelope)◀类囊体片层(Thylakoid)

图6-1 热胁迫对番茄耐热品种02276和感热品种L402叶肉细胞叶绿体超微结构的影响

(a)品种02276叶肉细胞的叶绿体，对照，×15 000；(b)品种02276高温(40 ℃)处理4 h后叶肉细胞的叶绿体结构，×15 000；(c)品种02276，高温处理8 h后叶肉细胞的叶绿体结构，×20 000；(d)品种02276常温(28 ℃)条件下恢复24 h后叶肉细胞叶绿体的结构，×15 000；(e)品种L402叶肉细胞的叶绿体，对照，×15 000；(f)品种L402，高温(40 ℃)处理4 h后叶肉细胞的叶绿体结构，×15 000；(g)品种L402高温处理8 h后叶肉细胞的叶绿体结构，×20 000；(h)品种L402，常温(28 ℃)恢复24 h后叶肉细胞的叶绿体结构，×15 000。(引自王冬梅等，2004)

6.3 热胁迫对植物生理生化的影响

6.3.1 光合作用

研究表明高温胁迫能够抑制卡尔文循环，高温胁迫时核酮糖 -1,5 - 二磷酸羧化/加氧酶（Rubisco）活性受热不稳定，而且 Rubisco 活性受抑制是与光抑制紧密相连的，而且高温胁迫时，光合速率下降趋势和 Rubisco 活性下降趋势相同。因此高温抑制卡尔文循环的最初位点可能是 Rubisco。与 PSⅡ相比，PSⅠ表现出更强的耐热性，可能 PSⅠ对高温不敏感（Boucher 和 Carpentier，1993；Havaux 等，1996）。

（1）热胁迫对植物 PSⅡ的影响

PSⅡ是高温胁迫的初始位点，在高温胁迫下 PSⅡ的功能最先受到伤害。类囊体膜上光系统Ⅱ主要由天线复合体、反应中心复合体和放氧复合体等亚单位组成。热胁迫能够影响 PSⅡ的天线系统、放氧复合体和 PSⅡ反应中心。

PSⅡ的外周天线 LHCⅡ是一类结构相似、由核基因编码的蛋白与色素所形成的色素蛋白复合体家族（LHCB），主要由六种色素蛋白复合体 LHCB1、LHCB2、LHCB3、LHCB4、LHCB5 和 LHCB6组成，由 LHCB1、LHCB2、LHCB3 组成的 LHCⅡb 主要以三聚体形式存在，一般也称为主外周天线，包含了光系统Ⅱ中大约 60% 的叶绿素（Chl）分子，另外三个次外周天线 LHCB4（CP29 或 LHCⅡa）、LHCB5（CP26 或 LHCⅡc）、LHCB6（CP24 或 LHCⅡd）主要以单体形式存在，分别包含了光系统 II 中大约 3% ~5% 的 Chl 分子。LHCⅡ作为光系统 II 最外围接收光能的触角，它所包含的色素分子是最丰富的，有 Chla、Chlb 以及类胡萝卜素分子。在对天线系统的研究中，已有实验显示高温导致豌豆捕光天线构象发生变化，增加了磷酸化的 LHCⅡ数量，并且促使磷酸化的 LHCⅡ从堆垛区向非堆垛区迁移，同时高温还会影响与基粒区相连的 LHCⅡ的捕光机制（Mohanty等，2002）。高温可以导致 PSⅡ反应中心的外周天线磷酸化，天线构象发生改变，并与 PSⅡ反应中心分离（Srivastava 等，1997）。对类囊体膜多肽组分分析表明，高光胁迫使属于 PSⅡ捕光色素蛋白复合体的 27×10^3、25×10^3 蛋白含量在两个亚种中都降低，其中 25×10^3 蛋白含量降幅最大。辛越勇等（2000）在研究高光胁迫对耐光抑制水稻粳亚种和光抑制敏感水稻籼亚种光合系统的影响中发现，与粳稻相比，高光胁迫几乎使籼稻的 PSⅡ捕光色素蛋白复合体的三聚体解体，PSⅡ捕光色素蛋白复合体单体含量增加。另外高温引起状态转换过程中，光吸收截面的变化也涉及天线色素蛋白复合体的脱离，以及在两个光系统之间的迁移。

光合放氧是高等植物和藻类 PSⅡ特有的功能（Wild 和 Ball，1997）。锰原子形成锰簇催化放氧反应，高温处理后锰簇从 PSⅡ反应中心复合体中释放，导致 PSⅡ放氧活性的丧失（Nash 等，1985）。除了锰簇外，在高等植物中另有相对分子质量为 33×10^3、23×10^3 和 17×10^3 的三个外周蛋白结合于 PSⅡ囊腔侧，维持 PSⅡ的放氧活性（Seidler，1996）。高温下，PSⅡ放氧活性受抑制（Coca 等，1996）。Enami 等（1994）在研究高温对菠菜放氧复合体的影响时发现，高温胁迫首先引起 PSⅡ的锰稳定外周 33×10^3 蛋白的释放，然后锰原子释放，放氧活性丧失，据此他认为 33×10^3 蛋白释放是放氧复合体失活的主要原因。Yamane 等（1998）还提出了高温胁迫下菠菜 PSⅡ的降解过程模式：高温胁迫使 PSⅡ复合体降解至少要经过两个中间类型，锰稳定 33×10^3 蛋白从

PSⅡ复合体中释放或松散地与 PSⅡ结合，光下放氧变的不稳定，当温度恢复到适温，33 × 10^3 蛋白重新与 PSⅡ放氧复合体结合，PSⅡ表现出稳定的放氧活性。这个过程是可逆的，但如果用更高的温度处理，PSⅡ完全失活，即使在 25 ℃下也不能恢复活性。一旦高温导致 PSⅡ放氧复合体失活，光合线性电子传递势必会受到抑制（周海燕等，2006）。线性电子传递降低不仅导致光合速率下降，而且还可能导致跨类囊体膜质子梯度的降低，而跨类囊体膜质子梯度与植物的光破坏防御机制密切相关（Demmig 和 Adams，1992）。

一些研究表明高温胁迫可导致 PSⅡ反应中心的破坏，抑制激发能从天线色素蛋白到 PSⅡ反应中心的传递，并可导致激发能更多的由 PSⅡ向 PSⅠ的满溢等（Schreiber 和 Armond，1978）。PSⅡ的反应中心，同水的裂解系统一样是蓝细菌热胁迫的主要损伤位点（Inoue 等，2000；2001）。Lavergne（1974）发现植物体内有一部分 PSⅡ反应中心不能有效还原电子受体 QB，称之为 PSⅡ QB－非还原中心，也叫无活性中心；而正常的 PSⅡ反应中心为有活性中心。Chylla 和 Whitmarsh（1989）证实了 PSⅡ无活性中心在活体内的存在。两类反应中心在结构、功能和叶绿体内的定位有明显不同：一类同较大的天线色素蛋白复合体相联系，位于基粒类囊体膜，能还原 QB，将电子传递到质体醌；另一类同较小的天线色素蛋白复合体相联系，位于间质片层膜，不能还原 QB，不能将电子传递到质醌（Govindjee，1990；Ort 和 Whitmarsh，1990）。前者是有功能的反应中心，后者为失活的反应中心，失活中心被认为是有功能反应中心的前体。高温胁迫可导致 PSⅡ有活性中心向无活性中心的转化（Cao 和 Govinjee，1990），这种转化可区分为直接和间接作用两个过程，间接作用的原因可能是由于高温胁迫激活了类囊体膜上的脂肪酶，使富含不饱和脂肪酸的类囊体膜脂降解，形成游离的不饱和脂肪酸，从而钝化反应中心（温晓刚等，1996）。PSⅡ失活的反应中心可以耗散过剩的激发能，保护相邻而又相连接的反应中心免遭强光破坏（Öquist 等，1992；Krause 等，1988）。许大全（1999）认为 PSⅡ反应中心的可逆失活很可能是一种重要的耗散机制，这种耗散机制可能与天线复合物从 PSⅡ反应中心脱落，D1 蛋白的磷酸化及去磷酸化，以及 PSⅡ复合物单体与双体的相互转变有关（Aro 等，1992）。高温胁迫下热锻炼甘蓝幼苗的 Fv、qP 和 PSⅡ均明显高于对照，qNs 明显降低，以维持较高的高能态猝灭（qNf）耗散过剩激发能，保护 PSⅡ反应中心不受破坏（付振书等，2004）。关于失活的 PSⅡ反应中心的具体耗散机制仍不清楚，可能涉及反应中心电荷分离后的重新组合或围绕 PSⅡ的循环电子流（Chow，1994）。

高温胁迫下，光合线性电子传递受抑制，QA 还原程度降低（Bukhov 等，2000），并伴随 PSⅡ受损，造成不可逆的光抑制。严重高温胁迫下，QA 到 QB 的电子传递被阻断。有研究者提出次级醌受体 QB 是光合失活的主要位点（Gong 和 Ohad，1991）。在 37 ~ 43 ℃范围内，随温度升高 QA 还原程度和还原速率增大，QA→QB 的电子传递受到抑制，高温胁迫伤害了 PSⅡ受体库，而 PSⅡ供体侧未受到影响，当温度达到 46 ℃时 PSⅡ供体侧受到伤害（陈锋等，2006）。许多学者认为 PSⅡ放氧复合物比其受体端对高温更敏感（Pavel 和 Esa，1999）。Lu 等（2000）研究认为 PSⅡ天线的激发能捕获对高温最敏感，次之是 PSⅡ的放氧复合物，最后是 PSⅡ受体端的电子传递。

（2）高温胁迫下的光破坏防御机制

高温胁迫下，植物叶片所利用的光能只占光合器官所吸收光能的一部分，过剩的激发能如果不能被及时地耗散掉，就会导致光抑制甚至损伤光合机构（Asada 和 Takahashi，1987）。植物在长期的进化中形成了一整套耗散过剩光能的有效机制，用以防御过剩光能对光合机构的破坏。在植物体内，多种能量耗散机制往往是共存的。植物叶片捕获光能后，主要有三条相互竞争的出

路,光化学反应、荧光发射和非辐射能量耗散 NPQ(其中热耗散起主要作用),这三条途径相互竞争,任何一条途径减慢其他两条途径就会增加(Krause 和 Weis,1991)。Demmig-Adams(1990)认为热耗散有两种模式,一种依赖叶黄素循环,被 DTT 所抑制,定位于天线色素复合物;另一种不依赖叶黄素循环,不被 DTT 所抑制,定位于 PSⅡ反应中心,这两种热耗散方式都以类囊体膜△pH 的建立为前提。①叶黄素循环,叶黄素循环是耗散过剩光能的重要方式,它包含三种组分:紫黄质(V)、花药黄质(A)和玉米黄质(Z),在抗坏血酸存在的条件下,V 经脱环化分别形成 A 和 Z,而 Z 到 V 的转化需要氧气和 NADPH。两个反应的关键酶分别为紫黄质脱环氧化酶(VDE)和玉米黄质环氧化酶(ZE)。在低温胁迫下,叶黄素循环能够耗散过剩光能,对光系统就有一定的保护作用,那么在高温胁迫下,叶黄素循环是否也能起到同样的保护作用呢? Havaux 等(1996)用中度高温(35 ℃)处理马铃薯(*Solanum tuberosum*)的叶片,发现紫黄质与 PSⅡ天线复合物发生分离后,游离于类囊体膜的基质中,同时紫黄质去环氧化的能力增强,PSⅡ的热稳定性增加,这种对温度的快速适应与叶黄素循环中的玉米黄质的积累有关。Varadi 等(1994)也发现抗莠去净(除草剂)的突变体因叶黄素循环的活性遭到破坏,其对热胁迫比野生型更敏感。所以,中度高温下 PSⅡ的热稳定性与叶黄素循环的增强有密切的关系。另有研究表明高温导致类囊体膜流动性增强,严重时会破坏类囊体膜,但玉米黄质的积累可以降低类囊体膜的流动性,叶黄素循环可能通过影响类囊体膜的流动性,间接保护光合机构(Gruszecki 和 Strzalka,1991;Havaux 和 Gruszecki,1993;Havaux,1998)。根据暗恢复速度的快慢,人们将 NPQ 分为三种组分,qE 是依赖跨类囊体膜△pH 的高能态猝灭,被尼日利亚菌素所抑制,qE 一般在一分钟内恢复,称为快组分;qT 主要是状态转换猝灭,被氟化物所抑制,一般在 5 min 内恢复,称为中间组分。qI 主要与同叶黄素循环相联系的非光化学辐射热耗散及可能的光破坏有关,一般在几小时或更长时间才能恢复,称为慢组分。qE 在非光化学猝灭中起重要作用,其耗散位点在天线上,是对过剩激发能的快速响应机制。qT 对强光的光破坏防御作用目前仍没有形成统一认识,qI 包含的组分较多,但它能反映光合机构受到光抑制甚至是光破坏的程度。付振书等(2005)在研究高温胁迫下耐热甘蓝能量耗散时认为热耗散的增加主要是与叶黄素循环有关的快相组分的增加;②水—水循环,高温胁迫造成植物伤害的本质之一是膜伤害与质膜透性的增加(Martineau 和 Specht,1979)。高温打破了细胞内超氧自由基(O_2^-)、羟自由基(·OH)、丙二醛(MDA)的产生与清除间的平衡,造成O_2^-、·OH 和 MDA 的积累,使植物膜上类脂饱和程度下降,引起膜蛋白与膜内脂的变化,从而使质膜透性增大,电解质外渗量增大,进而对植物造成高温伤害(彭文博等,1992;陈少裕,1989)。此后大量试验表明,高温下细胞膜系统的稳定性与植物的抗热性呈正相关(Martineau 和 Specht,1979;陈少裕,1989)。为了防止活性氧对植物造成伤害,植物体内存在酶促与非酶促两大清除活性氧系统。非酶类抗氧化物质主要有抗坏血酸、谷胱甘肽、类黄酮、类胡萝卜素和 α-生育酚等。还存在一些清除酶类,主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)与谷胱甘肽还原酶(GR)等(Song 等,2005),这些抗氧化物质能够及时清除活性氧以减轻或避免活性氧对植物所造成的光氧化破坏(Noctor 和 Foyer,1998)。活性氧清除系统的保护作用只有在保护酶及抗氧化物质的协同作用下,通过水-水循环途径实现(Halliwell,1984)。

植物体中存在着多种光破坏防御机制,不同的耗散过剩激发能机制可能同时存在,相互协调,共同起作用。Demming-Adams 等(1993)用 CAP(氯霉素,叶绿素蛋白合成抑制剂)或 DTT(二硫苏糖醇,叶黄素循环抑制剂)分别处理菠菜叶片,强光诱导的 PSⅡ光化学效率降低,在弱光

和黑暗条件下又逐渐恢复;用 CAP + DTT 同时处理,造成 PSⅡ光化学效率的不可逆下降,在 DTT 存在下,抑制了依赖叶黄素循环的能量耗散,蛋白的周转在光化学效率的恢复过程中可能起主要作用;CAP 处理下,叶黄素循环可能耗散过剩的激发能,对光化学效率的恢复起一定作用;在强光下,用 CAP + DTT 同时处理,另一种能量耗散机制(不依赖于叶黄素循环)加强,由于其荧光参数 Fo 增加,推测可能是 PSⅡ反应中心失活(包括 LHCⅡ与 PSⅡ反应中心的分离)耗散了一定比例的激发能,由于使用 CAP 处理,蛋白质的合成受到抑制,因此光化学效率的恢复是不可逆的。对缺乏 VDE 的突变体(*npql*)进行研究发现,与野生型相比,NPQ 减少了 70%(Havaux 和 Niyogi,1999;Gimore,2001),也表明叶黄素循环受到抑制时,仍有其他形式的能量耗散机制存在。因此,在植物的叶绿体中,多种能量耗散机制往往是共存的。

6.3.2 呼吸作用

植物光合作用的最适温度一般都低于呼吸的最适温度,在生理上通常把光合速率与呼吸速率相等时的温度称为温度补偿点(temperature compensation point),如果植物处于温度补偿点以上的较高温度下,呼吸作用大于光合作用,贮存的营养物质消耗加快,造成饥饿,如高温持续时间较长则会导致植物死亡。高温使植物组织内氧分压降低,使无氧呼吸增强,积累乙醛、乙醇等有毒物质;高温下蛋白质分解大于合成,形成大量游离 NH_3 毒害细胞。

研究表明,高温胁迫在不同程度上降低各个大白菜品种的呼吸强度,耐热品种的呼吸强度明显低于未处理的,且耐热品种降低幅度小。有的学者认为高温胁迫下植物的呼吸作用变化呈波动性。呼吸作用呈现的波动性的原因可能是在处理之初,气孔关闭造成呼吸速率下降,随后由于与呼吸有关的酶活性随温度的上升而增加,随着处理时间延长,高温造成呼吸系统的伤害,从而导致呼吸速率下降(欧祖兰和曹福亮,2008)。

6.3.3 膜功能

Martireau 等(1979)认为植物在高温逆境下造成膜透性的增加是高温伤害的本质之一。温度逆境下,原初反应体现在生物膜系统的类脂分子热相变上。高温主要通过影响类囊体的物理化学性质和组织结构,导致细胞膜的解体和细胞组分的降解,进而对植物造成高温损伤。当温度升高时,蛋白质移动幅度加大,生物膜结构发生变化,构成生物膜的蛋白质与脂类之间的键断裂,使脂类脱离膜而形成一些液化的小囊泡,从而破坏了膜的结构,导致膜丧失选择透性与主动吸收等特性。膜脂液化程度与脂肪酸的饱和程度有关,饱和程度越高越不易液化,则耐热性越强。如高温易导致叶绿体类囊体上**放氧蛋白复合体**(oxygen evolving complex,OEC)失活、PSⅡ非光化学荧光增加等都与膜伤害有关。1978 年,Pearcy 研究发现,随植物生长环境温度的提高,叶片中的膜脂脂肪酸饱和程度增加,在高温胁迫下光合作用的稳定性增强,此后膜脂饱和程度与植物高温抗性间的关系受到人们的广泛关注。许多研究表明,高温下类囊体膜脂饱和程度的提高能够增强细胞膜系统的稳定性,从而有利于植物抵抗高温胁迫(Santarius,1975;Pete,1986;Vijayan 和 Browse,2002)。Berry 等(1980)研究认为高温对光合机构伤害的原初部位是光系统Ⅱ,由于 PSⅡ中一些重要的色素蛋白复合体都结合在叶绿体的类囊体膜上,高温引起类囊体膜脂组成或结构的变化,会影响到 PSⅡ的功能和稳定性,导致其光能转化效率降低(孙艳等,2005;汪炳良等,2004)。Raison 等(1982)的研究证实了 Pearcy 和 Berry 等的结论。2000 年,Murakami 等通过遗

传修饰使转基因烟草中编码叶绿体脂肪酸去饱和酶的基因沉默，导致类囊体膜脂不饱和脂肪酸水平下降，比野生型更好地适应高温，表明降低膜脂不饱和脂肪酸含量可以改善高温条件下植物的光合作用和生长。Yang 等（2002）研究发现，热胁迫下**双半乳糖甘油二酯**（digalactosyldiacylglycerol，DGDG）能够稳定菠菜 PSⅡ中心复合物，其机理可能是 DGDG 抑制 33kDa 蛋白从中心复合物释放。Sato 等（2003）用一种缺失 SQDG 的 *Chlamydomonas reinhardtii* 突变体为材料，发现**硫代异鼠李糖甘油二酯**（sulfoquinovosyldiacylglycerol，SQDG）同 PSⅡ复合体相结合维持其正常构象，提高热胁迫下 PSⅡ复合体的稳定性，并且有利于热诱导 PSⅡ失活的恢复。然而，Gombos 等（1994）和 Moon 等（1995）研究认为膜脂脂肪酸饱和程度的提高并没有改变植物适应高温胁迫的能力。因此，高温胁迫下膜脂脂肪酸饱和程度与光合机构稳定性的关系有待进一步证明。

6.3.4 酶及蛋白质

由于维持蛋白质空间构型的氢键和疏水键的键能较低，因此高温易使上述键断裂，破坏蛋白质的空间构型，失去二、三级结构，使蛋白质分子展开，失去原有生理活性。蛋白质的变性最初是可逆的，但在持续高温作用下很快能转变为不可逆的凝聚状态：高温使细胞产生自溶的水解酶类或溶酶体破裂放出的水解酶类均能使蛋白质分解；高温下氧化磷酸化解耦联，ATP 减少，使蛋白质合成受阻；高温破坏了核糖体与核酸的生物活性。因此，高温下不仅蛋白质含量下降，而且还会引起激素代谢及其他代谢紊乱，导致生长不良或引起伤害。Law 和 Crafts-Brandner（1999）也曾观测到，高温胁迫时，光合速率下降趋势和 Rubisco 活性下降趋势相同。据此认为高温抑制卡尔文循环的最初位点为 Rubisco。Rubisco 的活化是由 Rubisco 活化酶（activase）催化的（Salvucci 和 Ögren，1996），高温下 Rubisco 活化酶更容易失活（Eckardt 和 Portis，1997）。Weis（1981）以菠菜离体叶绿体和完整植株为材料，研究了高温胁迫对 Rubisco 活性的影响，他发现光下 Rubisco 活性受热不稳定，而且 Rubisco 活性受抑制是与光抑制紧密相连。Rubisco 的活化是由 Rubisco 活化酶催化（Salvucci 等，1996），高温下 Rubisco 活化酶更容易失活（Eckhardt，1997），中度热胁迫导致 Rubisco 活性受抑制，是由于热胁迫抑制了 Rubisco 活化酶各亚基之间的相互作用导致 Rubisco 活化酶高温下失活或者 Rubisco 活化酶与 Rubisco 之间的相互作用受到抑制所致（Feller 等，1998；Law 和 Crafts-Brandner，1999）。

6.4 植物对高温的形态适应

6.4.1 物候学

温度能够影响植物的物候期，温度升高，物候期提前，温度降低，物候期明显推迟。用温度处理室自动控温系统分别对植株进行昼间 35 ℃亚高温处理，研究不同生育期开始的亚高温处理对番茄植株物候期、果实产量与品质的影响发现在番茄不同生育期进行昼间 35 ℃亚高温处理，植株的物候期提前，生育期缩短（张洁等，2007）。

6.4.2 形态学适应

高温胁迫下，植物的外部形态往往发生反常的变化，从而影响植物的正常生长发育。一些耐

热植物品种形态往往与不耐热品种有所不同。例如,在高温胁迫中萝卜耐热品种的叶型为板叶,叶面积大、叶厚、叶色深绿、功能叶多。高温胁迫下,与萝卜感热品种比较,萝卜耐热品种的叶表皮气孔密度大、体积小、开度小;叶肉细胞排列紧密,很少出现质壁分离;叶柄维管束总面积大,具有发达的形成层及厚壁组织。这些结构特点与保持水分、免受高温失水伤害的生理功能相适应。菜豆在高温条件下,花粉总粒数增加;而不耐热品种较耐热品种畸形花粉增加(刘艳鸣等,2002)。

6.5 植物对热胁迫的生理生化适应

6.5.1 提高膜的耐热性

高温对植物造成的伤害主要是使膜相改变,结合在膜上的酶系统受到破坏,积累一些有毒的中间产物,使植物中毒。氧化磷酸化解耦联后,能量主要以热能形式放出,很少储存于高能磷酸键中,有机体的内能降低,从而使正常的生理过程受阻。植物对高温的适应主要体现在类囊体膜重要成分的改变,包括脂类成分的适应变化。在热适应期间,植物可能通过提高膜脂饱和度保持其固有的膜结构和功能。相对饱和的脂类在提高温度时显著降低类囊体膜的流动性,因此保持了良好的在光合系统之间的电子携带侧向运转。在活体中,具有膜脂类基质的叶黄素—循环色素的反应已被一系列的实验所证实(宋春雨等,2002)。Havaux 等(1996)用中度高温(35 ℃)处理马铃薯(*Solanum tuberosum*)的叶片,发现紫黄质与 PSⅡ天线复合物发生分离后,游离于类囊体膜的基质中,同时紫黄质去环氧化的能力增强,PSⅡ的热稳定性增加,这种对温度的快速适应与叶黄素循环中的玉米黄质的积累有关。中度高温下 PSⅡ的热稳定性与叶黄素循环的增强有密切的关系。另有研究表明高温导致类囊体膜流动性增强,严重时会破坏类囊体膜,但玉米黄质的积累可以降低类囊体膜的流动性,叶黄素循环可能通过影响类囊体膜的流动性,间接保护光合机构(Havaux 和 Gruszecki,1993;Havaux,1998)。

6.5.2 通过改变蒸腾作用提高耐热性

蒸腾强度在高温条件下升高幅度及其在不同时段的变化与品种的抗热性成正相关,抗热品种具有较高的蒸腾速率,这可能成为植物抗热性鉴定指标之一。研究表明,在常温下芹菜抗热品种的日均蒸腾率近于或低于热敏型品种的,但当气温升高到相应的胁迫高温时,芹菜抗热品种意大利夏芹和上农一号日均蒸腾率分别增长 212% 和 120%,而热敏型的黄心芹和白杆芹的增长率仅分别为 50% 和 51%(图 6-2)。说明在胁迫高温下抗热型品种蒸腾率增长速度明显大于热敏型的(金新文和沈征言,1999)。

王光耀等(1999)研究表明,菜豆抗热品种的气孔密度显著大于不抗热品种,抗热品种的蒸腾强度大是由于其气孔密度和气孔开度都大于不抗热品种所致。抗热品种能在高温下维持较长时间较低的气孔阻抗,说明抗热品种的水分状况较好,根系吸水能力强,或者说根系受高温的影响更小。而不同菜豆品种的叶片气孔阻抗差异的原因很可能是其根系生理活性强弱的外在表现(王光耀等,1999)。

高温胁迫时,增加蒸腾能加速植物对水分、矿物质的吸收和气体交换,降低叶片温度,但随着

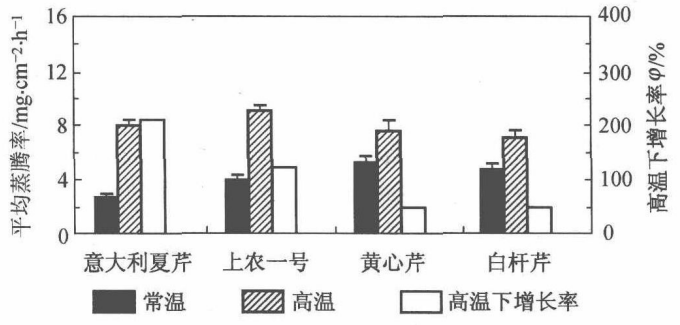


图 6-2 高温下芹菜日平均蒸腾速率的变化

(引自金新文和沈征言,1999)

高温胁迫时间延长,强烈的蒸腾作用会使植物因缺水而受害,耐热品种此时不再通过提高蒸腾速率降低叶温,而是维持较低蒸腾速率以避免水分丧失过多导致植株萎蔫。

6.5.3 通过提高酶的热稳定性提高耐热性

提高温度能显著降低类囊体膜的流动性,结合在膜上的酶系统受到破坏,使酶活性下降,氧化磷酸化解偶联,与此同时,与膜结合的酶系统与在膜外游离的酶系统之间丧失固有的平衡,破坏原有的协调过程,积累一些有毒的中间产物,使植物中毒。氧化磷酸化解偶联后,能量主要以热能形式放出,很少储存于高能磷酸键中,有机体的内能降低,从而使正常的生理过程受阻。因此提高酶的热稳定性能够降低酶钝化、失活的比例,维持高温下正常的生理功能。对酶活力发挥起关键作用的是酶的二、三级结构,酶的二、三级结构是在一级结构的基础上,通过二硫键、氢键、盐键、疏水作用和静电作用等化学力,折叠而成。酶的稳定性取决于酶是否以最小自由能的构象存在。因此,通过改变酶的内在氨基酸结构和外界环境可影响其构象,从而提高酶的热稳定性。

6.5.4 通过诱导产生热激蛋白提高耐热性

高温胁迫下,正常的蛋白合成受到一定抑制,但细胞能合成热激蛋白(heat-shock proteins, HSPs)来适应高温环境。植物中主要的热激蛋白分为五大类:HSP100,HSP90,HSP70,HSP60 以及**小分子热激蛋白**(small heat-shock proteins,sHSPs)。许多体外及体内的研究表明,HSPs 在细胞中起分子伴侣作用。作为"分子伴侣"HSPs 可以与正在合成的多肽结合,使其正确折叠;引导新生肽穿过细胞器膜使蛋白定位于细胞的不同部位;在高温胁迫下,HSPs 起到阻止热变性蛋白的聚集或阻止不可逆的蛋白变性,或有利于蛋白质在高温胁迫变性之后的复性等作用。

研究表明,高温热激下产生热激蛋白可以提高植物抗热力。热锻炼诱导大量热激蛋白的表达。大量热激蛋白富集在膜组分上,具有防止膜的变性和热破碎功能。体外热变性实验中证明,**低分子量热激蛋白**(low molecular weight HSPs,LMW HSPs)可阻止葡萄糖氧化酶、柠檬酸合成酶的热变性,而且还可以加速这些变性蛋白质复性,进入叶绿体的大豆热激 HSP26-28 可以保护光系统Ⅱ的反应中心,防止热激时受损。研究证实线粒体小分子热激蛋白可以减轻柠檬酸合成酶的热变性,说明线粒体小分子量热激蛋白对高温下柠檬酸合成酶有保护作用(刘箭和庄野真理子,2001)。豌豆叶片 HSP60 可以显著抑制荧光素酶(Luc)聚集作用,保护 Luc 的活性状态,同时

HSP60 对 APX 的活性有保护作用。由此看来,高温诱导产生的热激蛋白可以保护蛋白质免遭损伤或修复已损伤的蛋白质起到保护作用,诱导产生的热激蛋白能使植物获得耐热性(陈培琴等,2006)。

6.6 植物耐热的分子机理

6.6.1 热激蛋白与耐热性

植物中几乎所有的热激蛋白都与细胞耐热性的产生有关,但最重要的是小分子热激蛋白(sHSPs),而且植物也是唯一发现具有细胞器定位的 sHSPs 的真核生物。在最适生长温度下,sHSPs 在植物组织中一般检测不到,受到热激诱导时,sHSPs 的合成量迅速增加,可提高 200 倍以上。同样的热激诱导条件下,HSP60 表达量只提高 2 倍(DeRocher 等,1991)。而且 sHSPs 的积累量与热激温度和持续时间成正比。在去掉热激条件后,sHSPs 依然具有很高的稳定性,半衰期长达 30 ~ 50 h。因此,sHSPs 很可能和植物受到热激后的存活及恢复密切相关。

近年来研究表明,热激时 HSP70 迅速移向核内,并在核仁和核质中积累;在热激恢复时,又回迁到细胞质,具有保护细胞或机体免受损伤的作用。用不能合成 HSPs 的突变体 HSP70 合成受阻遏的细胞以及不能合成 HSP70 的细胞为材料,发现热激时,这些细胞对热敏感性增加甚至死亡。与 70×10^3 HSP 相比较,14×10^3 HSP 可能是细胞质热保护的重要因子。热锻炼过程中有大量热激蛋白的表达,大量的热激蛋白富集在膜组分上,具有阻止膜蛋白变性、防止生物膜热破碎的功能。

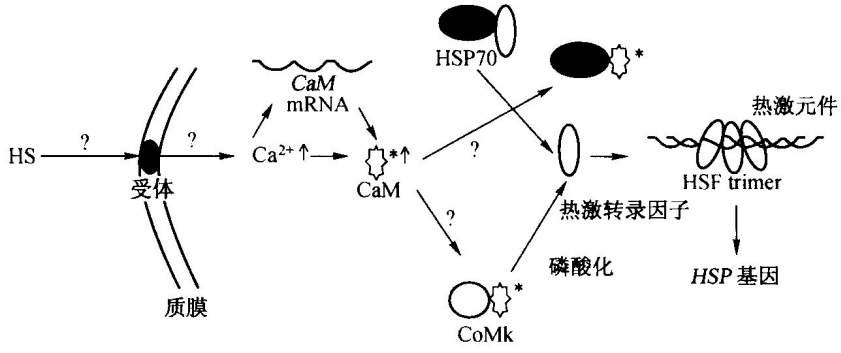
6.6.2 热胁迫的信号转导

热刺激能诱导机体产生**热激响应**(heat shock response,HSR)。在热激基因表达之前许多信号转导组分已经发生改变。一些直接或间接的证据表明 Ca^{2+} 及 CaM 参与了植物 HSR 的信号转导。真核生物中热激基因的表达被**热激转录因子**(heat shock transcription factor,HSF)介导。热胁迫时,HSF 被激活并结合到**热激元件**(heat shock element,HSE)上。

国内外研究表明,钙 - 钙调素(Ca^{2+} - CaM)信号系统参与植物热激信号转导。激光共聚焦扫描显微镜的观察表明,热激引起小麦胞内自由 Ca^{2+} 浓度迅速升高。在 Ca^{2+} 存在条件下,热激也引起小麦 *CaM* 基因 CaM1-2 表达及 CaM 蛋白含量增加。Ca^{2+} 促进小麦热激基因 *hsp*26 和 *hsp*70 表达和热激蛋白合成,而 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA、Ca^{2+} 通道阻断剂异搏定和 $LaCl_3$、CaM 抑制剂 W7、TFP 和 CPZ 明显降低热激基因 *hsp*26 和 *hsp*70 表达和热激蛋白合成。小麦 *CaM* 基因与热激基因的表达动力学研究表明 CaM 位于热激信号转导的上游,而 Ca^{2+} 是启动热激反应的胞内关键因子(李冰和周人纲,2007)。

热激信号转导过程涉及蛋白与蛋白分子间的相互作用及转录后修饰等多个环节,因此可能存在几种不同的信号转导途径交互或协同作用,形成一个复杂的调节网络。目前关于热激信号转导途径的假说有:胁迫变性蛋白的积累可能是诱导热激基因表达的信号,变性蛋白通过与 Hsp70 结合引起 Hsp70 - HSF 复合体释放 HSF;Ca^{2+} 及其他一些生化条件通过引起蛋白质构型改变而激活 HSF。热激诱导的膜流动性的改变也可能代表感受热信号的位点,细胞膜可能通过细

胞骨架、Ca^{2+}流及**钙依赖的蛋白激酶**(calcium-dependent protein kinase,CDPK)传递信息并活化**促分裂原活化蛋白激酶**(mitogen-activated protein kinase,MAPK)而激活 HSF。李冰和周人纲(2007)提出在植物细胞内还存在一条新的热激信号转导途径,即钙-钙调素途径:热刺激首先被一种未知受体感受(这种受体有可能位于膜上),进而引起胞内 Ca^{2+}浓度升高,Ca^{2+}激活 CaM 或促进 CaM 基因的表达,活化的 Ca^{2+}-CaM 进一步激活 HSF,进而 HSF 形成三聚体与 HSE 结合激活热激基因的表达(图 6-3)。



* 表示激活的分子;? 有待研究的问题

图 6-3 钙-钙调素调节热激基因表达的模式

(引自李冰和周人纲,2007)

6.7 提高植物抗热性的途径

提高植物抗热性的途径除了利用传统及转基因技术获得抗热品种外,主要包括高温锻炼、改善栽培措施以及利用化学制剂处理等。

高温锻炼 高温锻炼能够提高植物的抗热性。一般是将萌动的种子,在适当高温下锻炼一定时间,再播种,可明显提高植物的抗热性。抗热锻炼提高植株耐热性的原理是在经受短时间热激处理后,生物体内可积累一系列热激蛋白。

改善栽培措施 栽培作物是通过及时灌深水,增加小气候湿度,促进蒸腾,有利于降温;采用高杆与矮杆、耐热作物与不耐热作物间作套种,采用人工遮荫;采用平衡施肥、合理密植等配套技术,实施科学栽培,提高作物抗高温、干旱的能力。

化学制剂处理 喷洒 $CaCl_2$、$ZnSO_4$、KH_2PO_4 等化学物质可增加生物膜的热稳定性,防止高温造成损伤。例如,对葡萄、水稻、番茄、玉米等植物的许多研究表明,对上述植物喷施 SA、ABA、Ca^{2+}或 6-BA 等植物生长调节剂,能促使植物体内合成较多的热激蛋白,提高植物的抗热性。

主要参考文献

1 陈锋,田纪春,孟庆伟,等. 短期高温胁迫对高产小麦品系灌浆后期旗叶光系统Ⅱ功能的影响. 应用生态学报,2006,17:1854~1858.

2 陈培琴,郁松林,詹妍妮,等. 植物在高温胁迫下的生理研究进展. 中国农学通报,2006,22:223~227.

3 陈少裕. 膜脂过氧化与植物逆境胁迫. 植物学通报,1989,6(4):211~217.
4 付振书,赵世杰,孟庆伟,等. 高温强光下耐热性不同的两个甘蓝品种幼苗光合作用差异的研究. 园艺学报,2005,32(1):25~29.
5 付振书,赵世杰,孟庆伟,等. 热锻炼对甘蓝幼苗叶片激发能分配的影响. 应用生态学报,2004,15(8):1353~1357.
6 金新文,沈征言. 三种蔬菜作物高温下蒸腾、种子活力和 ATP 的变化及其与抗热性的关系. 中国农业大学学报,1999,4:98~102.
7 李冰,周人纲. 钙-钙调素信号系统参与热激信号转导的研究. 西北植物学报,2004,24:1322~1328.
8 刘箭,庄野真理子. 高温下线粒体小分子热激蛋白对柠檬酸合成酶、线粒体和花粉粒的保护作用. 植物生理学报,2001,27:375~380.
9 刘艳鸣,张银东,陈青. 蔬菜耐热育种与耐热栽培研究进展与建议. 热带农业科学,2002,22:59~63.
10 苗琛,利容千,王建波. 甘蓝热胁迫下叶片细胞的超微结构研究. 植物学报,1994,36(9):730~732.
11 苗琛,尚富德. 热胁迫下不结球白菜耐热感热品种超微结构的差异. 河南科学,1996,14:9~13.
12 欧祖兰,曹福亮. 植物耐热性研究进展. 林业科技开发,2008,22:1~5.
13 彭文博,王向阳,赵会杰,等. 不同光温条件对小麦旗叶生理特性及粒重的影响. 植物生理学通讯,1992,28(6):421~423.
14 宋春雨,刘晓冰,金彩霞. 高温胁迫下光合器官受损及其适应机理. 农业系统科学与综合研究,2002,18:252~256.
15 孙艳,樊爱丽,徐伟君. 草酸对高温胁迫下黄瓜幼苗叶片光合机构和叶黄素循环的影响. 中国农业科学,2005,38(9):1774~1779.
16 汪炳良,徐敏,史庆华,等. 高温胁迫对早熟花椰菜叶片抗氧化系统和叶绿素及其荧光参数的影响. 中国农业科学,2004,37:1245~1250.
17 王冬梅,许向阳,李景富,等. 热胁迫对番茄叶肉细胞叶绿体超微结构的影响. 园艺学报,2004,31:820~821.
18 王光耀,刘俊梅,张仪,等. 菜豆四个不同抗热性品种的气孔特性. 农业生物技术学报,1999,7:267~270.
19 王义菊. 过量表达小分子热激蛋白对番茄耐热性的影响. 山东师范大学研究生学位论文,2005.
20 温晓刚,林世青,匡廷云. 高温胁迫对 PSⅡ异质性的影响. 生物物理学报,1996,12:714~718.
21 辛越勇,冯丽洁,许亦农,等. 高光胁迫对水稻籼粳亚种两个品种色素蛋白复合体的影响. 植物学报,2000,42(12):1278~1284.
22 许大全. 光系统Ⅱ反应中心的可逆失活及其生理意义. 植物生理学通讯,1999,35(4):273~276.
23 章建新,赵明,王美云,等. 小麦花药超微结构对短时高温的敏感性反应. 华北农学报,2000,15:48~52.
24 张洁,李天来,徐晶. 不同生育期昼间亚高温处理对日光温室番茄生产的影响. 中国农学通报,2007,23(9):381~385.
25 周海燕,赵世杰,孟庆伟. 高等植物光系统Ⅱ对高温的响应. 生物技术通报,2006,5:8~12.
26 Aro E M, Kettunen R, Tyystjrvi E. ATP and light regulated D1 protein modification and degradation. Role of D1 in photoinhibition. FEBS Lett, 1992, 297:29~33.
27 Asada K, Takahashi M. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In Photoinhibition (eds Kyle DJ, Osmond CB, Amtzen CJ). Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1987, 227~287.
28 Berry J A, Björkman O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. Annu Rev Plant Physiol, 1980, 31:491~543.

29 Boucher N, Carpentier R Heat-stress stimulation of oxygen uptake by photosystem Ⅰ involves the reduction of superoxide radicals by specific eletron donors. Photosynth Res, 1993, 35: 213 ~ 218.

30 Bukhov N G, Carpentier R. Hetergeneity of photosystem Ⅱ reaction centers as influenced by heat treatment of barley leaves. Physiol Plant, 2000, 110: 279 ~ 285.

31 Cao J, Govindjee. Chlorophyll a fluorescence transient as an indicator of active and inactive photosystem II in thylakoid membranes. Biochim Biophys Acta, 1990, 1015: 180 ~ 188.

32 Chow W S. Photoprotection and photoinhibitory damage. Adv Mol Cell Biol, 1994, 10: 151 ~ 196.

33 Chylla R A, Whitmarsh J. Inactive photosystem II complexes in leaves: Turnover rate and quantitation. Plant Physiol, 1989, 90: 765 ~ 772.

34 Coca M A, Almoguera C, Thomas T L *et al.* Differential regulation of small heat-shock genes in plants: analysis of a water-stress-inducible developmentally activated sunflower promoter. Plant Mol Biol, 1996, 31: 863 ~ 876.

35 Demmig-Adams B, Adams WW. III. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Annu Rev Plant Physiol and Plant Mol Biol, 1992, 43: 599 ~ 605.

36 Demming-Adams Adams ww Ⅲ. The xanthophyll cycle, protein turnover, and the high tolerance of sun-acclimated leaves. Plant Physiol, 1993, 103: 1413 ~ 1420.

37 Demmig-Adams B. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophylls zeaxanthin. Biochim Biophys Acta, 1990, 1020: 1 ~ 24.

38 DeRocher A E, Helm K W, Lauzon LM *et al.* Expression of a conserved family of cytoplasmic low molecular weight heat-shock proteins during heat shock stress and recovery. Plant Physiology, 1991, 96: 1038 ~ 1047. .

39 Eckardt N A, Portis A R J. Heat denaturation profiles of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) and Rubisco activase and the inability of Rubisco activase to restore activity of heat-denaturated Rubisco. Plant Physiol, 1997 (113): 243 ~ 248.

40 Enami I, Kitamura M, Tomo T *et al.* Is the primary cause of thermal inactivation of oxygen evolution in spinach PS Ⅱ membranes release of the extrinsic 33kDa protein or of Mn? Biochim Biophys Acta, 1994, 1186: 52 ~ 58.

41 Feller U, Crafts-Brandner S J, Salvucci M E. Moderately high temperatures inhibit ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) activase-mediated activation of Rubisco. Plant Physiol, 1998, 116: 539 ~ 546.

42 Gimore A M. Xanthophyll cycle-dependent nonphotochemical quenching in photosystem II: Mechanistic insights gained from *Arabidopsis thaliana* L. mutants that lack violaxanthin deepoxidase activity and/or lutein. Photosyn Res, 2001, 67: 89 ~ 101.

43 Gombos Z, Wada H, Hideg E *et al.* The unsaturation of membrane lipids stabilizes photosynthesis against heat stress. Plant physiol, 1994, 104: 563 ~ 567.

44 Gong H S, Ohad I. The PQ/PQH2 ratio and occupancy of photosystem Ⅱ-QB site by plastoquinone control the degradation of D1 protein during photoinhibition in vivo. J Biol Chem, 1991, 266: 21293 ~ 21299.

45 Govindjee. Photosystem II heterogeneity: the acceptor side. Photosynth Res, 1990, 25: 151 ~ 160.

46 Gruszecki W I, Strzalka K. Does the xanthophylls cycle take part in the regulation of fluidity of the thylakoid membrane? Biochim Biophys Acta, 1991, 1060: 310 ~ 314.

47 Halliwell B. Toxic effect of oxygen on plant tissue. Clarendon Press Oxford, 1984, 80 ~ 206.

48 Havaux M, Gruszecki W I. Heat-and light-induced chlorophyll a fluorescence changes in potato leaves containing high or low levels of the carotenoid zeaxanthin: Indications of a regulatory effect of zeaxanthin on thylakoid membrane fluidity. Photochem Photobiol, 1993, 58: 607 ~ 614.

49 Havaux M, Niyogi KK. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96: 8762 ~ 8767.

50 Havaux M, Tardy F, Ravenel J *et al.* Thylakoid membrane stability to heat stress studied by flash spectroscopic measurements of the electrochromic shift in intact potato leaves: influence of the xanthophyll content. Plant Cell Environ, 1996, 19: 1359 ~ 1368.

51 Havaux M. Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. Trends Plant Sci, 1998, 3: 147 ~ 151.

52 Inoue N, Emi T, Yamane YY *et al.* Effects of high-temperature treatments on a thermophilic cyanobacterium Synechococcus vulcanus. Plant Cell Physiol, 2000, 41: 515 ~ 522.

53 Inoue N, Taira Y, Emi T *et al.* Acclimation to the growth temperature and the high-temperature effects on photosystem II and plasma membranes in a mesophilic cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC6803. Plant Cell Physiol, 2001, 42: 1140 ~ 1148.

54 Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Anuu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1991, 42: 313 ~ 349.

55 Krause G H. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damage and protective mechanisms. Physiol Plant, 1988, 74: 566 ~ 574.

56 Lavergne J. Fluorescence induction in algae and chloroplasts. Photochem Photobiol, 1974, 20: 377 ~ 386.

57 Law R D, Crafts-Brandner S J. Inhibition and acclimation of photosynthesis to heat stress is closely correlated with activation of ribulose-1, 5 - bisphosphate carboxylase/oxygenase. Plant Physiol, 1999, 120: 173 ~ 181.

58 Lu C M, Zhang J H. Heat-induced multiple effects on PSII in wheat plants. J Plant Physiol, 2000, 156: 259 ~ 265.

59 Martineau J R, Specht J E Williams J H *et al.* Temperature tolerance in soybeans. Crop Sci, 1979, 19: 75 ~ 81.

60 Mohanty P, Vani B, Prakash JSS. Elevated temperature treatment induced alteration in thylakoid membrane organization and energy distribution between the two photosystems in Pisum sativum. Z Naturforch, 2002, 57: 836 ~ 42.

61 Moon B Y, Higashi S Gombos Z *et al.* Unsaturation of the membrane lipids of chloroplasts stabilizes the photosynthetic machinery against low-temperature photoinhibition in transgenic tobacco plants. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 6219 ~ 6223.

62 Murakami Y, Tsuyama M, Kobayashi Y *et al.* Trienoic fatty acids and plant tolerance of high temperature. Science, 2000, 287: 476 ~ 479.

63 Nash D, Miyao M, Murata N. Heat inactivation of oxygen evolution in photosystem Ⅱ particles and its acceleration by chloride depletion and exogenous manganese. Biochim Biophys Acta, 1985, 807: 127 ~ 133.

64 Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1998, 49: 249 ~ 279.

65 Öquist G, Chow W S, Anderson J M. Photoinhibtion of photosynthesis represents a mechanism for the long-term regulation of photosystem II. Planta, 1992, 186: 450 ~ 460.

66 Ort D R, Whitmarsh J. Inactive photosystem Ⅱ centers: A resolution of discrepencies in photosystem Ⅱ quantitation? Photosynth Res, 1990, 23: 101 ~ 104.

67 Pearcy R W. Effect of growth temperature on the fatty acid composition of the leaf lipids in *Atriplex lentiformis* (Torr.) Wats. Plant Physiol, 1978, 61: 484 ~ 486.

68 Pete G. Increased thermostability of pigment-protein complexes of pea thylakoid fowling catalytic hygrogenztion of membrane lipids. Biochemics Biophysical Acta, 1986, 849: 131 ~ 140.

69 Pospisil P. Tyystjari E. Molecular mechanism of high-temperature-induced inhibition of acceptor side of PSⅡ. Photosynth Res, 1999, 62: 55 ~ 66.

70 Raison J K, Roberts J K M, Berry J A. Correlation between the thermal stability of chloroplast (thylakoid) membranes and the composition and fluidity of their polar lipids upon acclimation of the higher plant, Nerium olean-

der, to growth temperature. Biochim Biophys Acta, 1982, 688: 218 ~ 228.

71 Salvucci M E, Ögren W L. The mechanism of Rubisco activase: insights from studies of the properties and structure of the enzyme. Photosynth Res, 1996, 47: 1 ~ 11.

72 Santarius K A. Site of heat sensitivity in chloroplasts and differential inactivation of cyclic and noncyclic photophoshorylation by heating. J Therm Biol, 1975, 1: 101 ~ 107.

73 Sato N, Aoki M, Maru Y *et al.* Involvement of sulfoquinovosyl diacylglycerol in the structural integrity and heat-tolerance of photosystem II. Planta, 2003, 217: 245 ~ 251.

74 Schreiber U, Armond P A. Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in isolated chloroplasts and related heat-damage at the pigment level. Biochim Biophys Acta, 1978, 502: 138 ~ 151.

75 Seidler A. The extrinsic polypeptides of photosystem II. Biochim Biophys Acta, 1996, 1277: 35 ~ 60.

76 Song X S, Hu W H, Mao W H *et al.* Response of ascorbate peroxidase isoenzymes and ascorbate regeneration system to abiotic stresses in *Cucumis sativus* L. Plant Physiol Biochem, 2005, 43: 1082 ~ 1088.

77 Srivastava A, Guisse B, Greppin H *et al.* Regulation of antenna structure and electron transport in photosystem Ⅱ of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient. Biochim Biophys Acta, 1997, 1320: 95 ~ 106.

78 Sui N, Li M, Zhao SJ *et al.* Overexpression of glycerol-3-phosphate acyltransferase gene improves chilling tolerance in tomato. Planta, 2007, 226: 1097 ~ 1108.

79 Varadi G, Darko E, Polos E *et al.* Xanthophyll cycle patterns and in vivo photoinhibition in herbicide-resistant biotypes of Conyza Canadensis. J Plant Physiol, 1994, 144(66): 669 ~ 674.

80 Vijayan P, Browse J. Photoinhibition in mutants of ArabidoPSIs deficient in thylakoid unsaturation. Plant Physiol, 2002, 129(2): 876 ~ 885.

81 Weis E. Temperature sensitivity of dark-inactivation and light-activation of the ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase in spinach chloroplasts. FEBS Lett, 1981, 129: 197 ~ 200.

82 Wild A, Ball R. Photosynthetic Unit and Photosystems. A Current View of the Photosynthetic Apparatus. Leiden: Backhugs Publishers, 1997, 127 ~ 153.

83 Yamane Y, Kashino Y, Koike H. Effects of high temperatures on the photosynthetic systems in spinach: oxygen-evolving activities, fluorescence characteristics and the denaturation process. Photosynthesis Research, 1998, 57: 51 ~ 59.

84 Yang Z L, Li L B, Kuang T Y. Thermal stability of oxygen evolution in photosystem Ⅱ core complex in the presence of digalactosyl diacylglycerol. Chinese Science Bulletin, 2002, 47: 2089 ~ 2092.

思考题

1. 高温胁迫对植物光系统Ⅱ产生哪些影响?
2. 简述高温胁迫下植物的光破坏防御机制。
3. 如何通过基因工程的手段提高植物的抗高温能力?
4. 试述热激蛋白在提高植物抗热性中的作用及目前的研究进展。
5. 植物抵抗低温和高温胁迫的生理机制有何异同?

名词索引(中英文对照)

B

伴侣蛋白(chaperone,Cpn) 14
避旱性(drought escape) 138
避涝性(flood avoidance) 164
避逆性(stress escape) 2
表面张力(surface tension) 105
丙二醛(malondialdehyde,MDA) 180
病原相关蛋白(pathogenesis related proteins,PRs) 14
不定根(adventitious root) 164

C

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD) 185
衬质势(matrix potential,ψ_m) 108
赤霉素(gibberellin,GA) 187
次生盐害(secondary salt injury) 55
促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK) 208

D

大气干旱(atmospheric drought) 112
低分子量热激蛋白(low molecular weight HSPs,LMW HSPs) 206
低温诱导蛋白(low-temperature-induced proteins) 14
多细胞盐腺(multicellular salt gland) 38

F

放氧蛋白复合体(oxygen evolving complex,OEC) 203
非光化学猝灭(non-photochemical quenching,NPQ) 124
非气孔限制(non-stomatal limitation) 122
非生物逆境(abiotic stress) 1
非损伤微测技术(non-invasive ion-selective microelectrode techniques) 43
非盐生植物(nonhalophyte) 18

G

钙依赖的蛋白激酶(calcium-dependent protein kinase,CDPK) 208
共价键(covalent bond) 103
共质体途径(symplastic pathway) 133
谷胱甘肽(glutathione,GSH) 185
光化学猝灭(photochemical quenching) 124
过氧化氢酶(catalase,CAT) 185
过氧化物酶(peroxidase,POD) 185

H

含水量(water content) 107
核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶(ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase,Rubisco) 184
还原势(redox potential) 158
活性氧(reactive oxygen species,ROS) 5

J

积盐型盐生植物(salt accumulator) 34
基本能耗(capital cost) 76
基粒(granum) 117
基质(stroma) 117
极限盐度(limiting salinity) 65
假盐生植物(pseudo-halophytes) 23
交叉适应(cross adaptation) 15

角质层(cutin layer) 114
净同化比(net assimilation ratio,NAR) 3
拒盐(salt exclusion) 33

K

抗冻蛋白(antifreeze proteins,AFPs) 188
抗坏血酸(ascorbic acid,ASA) 185
抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase,APX) 185
抗逆性(stress resistance) 2
抗盐性(salt resistance) 21
跨膜途径(transmembrane pathway) 133

L

蜡质(wax) 114
涝害(flood injury) 157
类囊体(thylakoid) 117
冷诱导基因(cold induced gene,COR) 192
离子区域化作用(ionic compartmentalization) 82
离子胁迫(ionic stress) 18
磷脂酰甘油(phosphatidyl glycerol,PG) 184
硫代异鼠李糖甘油二酯(sulfoquinovosyldiacylglycerol,SQDG) 204

M

脉内再循环(intraveinal recycling) 35
泌盐(salt excretion) 33
泌盐盐生植物(recretohalophytes) 23
膜透性(membrane permeability) 117
膜脂过氧化(membrane lipid peroxidation) 8

N

耐旱性(drought tolerance) 141
耐涝性(flood tolerance) 164
耐逆性(stress tolerance) 2
耐胁变性(strain tolerance) 2
耐盐植物(salt-tolerant plants) 21
内聚力(cohesion) 105
能耗(energy cost) 76
逆境(environmental stress) 1
逆境蛋白(stress proteins) 14
逆境激素(stress hormone) 55
逆境植物生物学(plant biology under stress) 2
黏附力(adhesion) 105

P

胚胎发育晚期丰富蛋白(late embryogenensis abundant protein,LEA 蛋白) 133
皮孔(lenticel) 164

Q

气孔导度(stomatal conductance) 162
气孔限制(stomatal limitation) 122
气孔振荡(stomatal oscillation) 142
气生根(aerial root) 164
氢键(hydrogen bond) 103

R

热激蛋白(heat shock protein,HSPs) 14
热激响应(heat shock response,HSR) 207
热激元件(heat shock element,HSE) 207
热激转录因子(heat shock transcription factor,HSF) 207
溶质势(或渗透势)(solute potential,osmotic potential,ψ_s) 108
肉质化(succulence) 114

S

渗调蛋白或渗压素(osmotin) 14
渗透调节(osmotic adjustment) 10
渗透调节能力(osmotic adjustment capacity) 143
渗透胁迫(osmtic stress) 18
生长(growth) 3
生理干旱(physiological drought) 113
生物逆境(biotic stress) 1
湿害(waterlogging injury) 157
适应(adaptation) 2
束缚水(bound water) 107
双半乳糖甘油二酯(digalactosyldiacylglycerol,DGDG) 204

双细胞盐腺(bicellular salt gland) 38
水势(water potential) 108
水通道蛋白(aquaporin,AQP) 131

T

田间持水量(field capacity) 157
铁氧还蛋白(ferredoxin,Fd) 182
通气组织(arenchyma) 165
土壤干旱(soil drought) 113
脱落酸(abscisic acid,ABA) 187
脱水反应元素 DRE(dehydration-responsive element) 192
脱水素(dehydrin) 134

W

维持能耗(maintenance cost) 76

X

稀盐(salt dilution) 33
细胞分裂素(cytokinin,CTK) 188
线粒体(mitochondrion) 118
相对含水量(relative water content,RWC) 107
相对生长速率(relative growth rate,RGR) 3
相容性溶质(compatible solutes) 10
向内泌盐植物(endo-recretohalophytes) 23
向外泌盐的盐生植物(exo-recretohalpphytes) 23
小分子热激蛋白(small heat-shock proteins,sHSPs) 206
胁变可逆性(strain reversibility) 2
胁变修复(strain repair) 2
胁迫(stress) 1
胁迫激素(stress hormone) 13
血红蛋白(hemoglobin,Hb) 171
驯化(acclimation) 2

Y

压力势(pressure potential,ψ_p) 108
盐度阈值(salinity threshold) 65
盐害(salt injury) 47
盐敏感植物(salt-sensitive plants) 21
盐囊泡(salt bladder) 36
盐生植物(halophyte) 18
盐腺(salt gland) 38
厌氧蛋白(anaerobic protein) 15
厌氧蛋白(anaerobic proteins,ANPs) 169
氧爆(oxidative burst) 8
氧化伤害(oxidative damage) 56
氧化胁迫(oxidative stress) 18
叶黄素循环(xanthophylls cycle) 147
叶绿体(chloroplast) 117
叶肉细胞间隙 CO_2 浓度(intercellular CO_2 concentration,C_i) 162
永久萎蔫点(permanent wilting point) 120
御旱性(drought avoidance) 139
御逆性(stress avoidance) 2
御胁变性(strain avoidance) 2
原初伤害(primary injury) 48
运行能耗(operational cost) 76

Z

真盐生植物(euhalophytes) 23
质体蓝素(plastocyanin,PC) 182
质外体途径(apoplastic pathway) 133
质子泵(proton pump) 82
质子驱动力(proton motive force,PMF) 82
重力势(gravitational potential,ψ_g) 108
紫外线诱导蛋白(UV-induced protein) 15
自由水(free water) 107